MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · F. A. PANETH - Mainz
F. SCHNEIDER - New York · R. STREBINGER - Wien
C. L. WILSON - Belfast · M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL - Wien

1956

NEUNTES HEFT

MIT 25 TEXTABBILDUNGEN

ABGESCHLOSSEN AM 14. APRIL 1956

WIEN

SPRINGER-VERLAG

1956

Mikrochim. Acta

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die zu Jahresbänden von etwa 800 Seiten vereinigt werden. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und den jeweiligen Herstellungskosten.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Einganges der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editors of „Mikrochimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler and Dr. F. Schneider)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: U 26 5 60 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Grundsätzlich werden nur Arbeiten angenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

1956 — **Inhaltsverzeichnis** — 9. Heft

Seite

Ayers, Cora W. Some Applications of the Use of the Reflectance Photodensitometer to Spot Test Analysis 1333

Burton, J. D., and **J. P. Riley.** Determination of Soluble Phosphate, and Total Phosphorus in Sea-Water and of Total Phosphorus in Marine Muds 1350

Blackman, L. C. F. Separation and Identification of Molybdenum and Tungsten 1366

Schöniger, W., und **A. Haack.** Ein bewährtes Destillationsgerät für die mikroanalytische Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 1369

Owen, W. S., and **W. M. Reid.** Apparatus for the Determination of Melting Points and Boiling Points 1373

Kolšek, J. Beitrag zur papierchromatographischen Bestimmung der Mutterkornalkaloide 1377

Lacourt, A., et **P. Heyndryckx.** Mise au point du microdosage spectrophotométrique direct du cobalt sur papier 1389

Dupuis, Thérèse. Etude des réactions de l'acétylformazyle et de ses dérivés avec les ions minéraux 1415

Korkisch, J., A. Thiard und **F. Hecht.** Schnellbestimmung des Urans in Meer- und Flußwässern 1422

Duval, C. Sur le noircissement des précipités de sels d'argent 1430

Research Department, British Nylon Spinners, Ltd., Pontypool, Monmouthshire

Some Applications of the Use of the Reflectance Photodensitometer to Spot Test Analysis

By

Cora W. Ayers*

With 4 Figures

(Received January 9, 1956)

Introduction

There are numerous references in the literature to the quantitative measurement of the colour of spots on chromatograms. Various different methods have been used, including the measurement by a planimeter of (a) the area of the coloured spot[1,2] or (b) the area of gaps in the solvent front caused by the retention of the solvent due to its interaction with the substance being analysed[3]. This second method is known as "retention analysis". Other methods measure (a) the total density of colour[4–10] or (b) the maximum colour density[11,12] using a densitometer, colorimeter or spectrophotometer. Of all these methods the densitometer or spectrophotometer measurements have provided the most precise methods for direct quantitative determinations. Since these methods have been successfully applied to the quantitative estimation of the colour of spots on chromatograms, their application to any microanalysis involving a colour reaction which could be carried out on paper was investigated. This paper describes the preliminary work carried out using a reflectance photodensitometer to measure the colour developed during certain spot tests. The technique enables tests to be carried out much more rapidly and requires very much smaller samples.

Reflectance measurements were carried out in preference to transmittance, mainly because it is much easier to measure reflectance. *Winslow* and *Liebhafsky*[13] have compared the reflectance and transmittancy

* Present address: Chemistry Dept., Birmingham University, Edgbaston, Birmingham 15.

of spots of copper treated with benzoinoxime using a spectrophotometer. They preferred transmittance measurements as these follow *Beer*'s law, whereas reflectance measurements do not. However a very simple relationship between the reading of the reflectance densitometer and concentration was found experimentally so that the results obtained by this method compare favourably with those determined by trans-

Fig. 1. Typical Results Obtained by Scanning a Series of Coloured Spots with the Densitometer

mittance methods. A very big disadvantage of the transmittance method is the necessity of treating the paper with substances such as paraffin to increase the transparency. Altogether, therefore, reflectance measurements were preferred.

Description of the Apparatus

The instrument used throughout this work was the reflectance photodensitometer made by Joyce, Loebl and Co. Ltd. The basic principle of the instrument and a description of its application to the scanning of electrophoresis strips have been published[14]. The scanning device is a light bridge. Two beams of light from a single source are used; one beam is reflected from the paper strip onto a photocell, whereas the other is reflected from a photowedge on to the same photocell. Arrangement is made for only one beam at a time to reach the photocell. The instrument is equipped with a scanning stage which carries both the filter paper strips which are being scanned and a chart paper. The strips

are scanned at 1-mm intervals and the readings of the densitometer are recorded directly on the chart paper.

The standard instrument was modified by having an aperture control fitted. This consisted of a series of circular slots of different sizes fitted between the light source and the filter paper strip. In this way the size of the beam of light scanning the coloured spots could be varied.

A typical scan of a series of coloured spots is shown in Fig. 1.

Theory

Spot test analysis is well established as a method of detecting micro quantities of materials. Drops of test and reagent solution are brought together on filter paper. The reaction product is fixed on the surface of the paper as a coloured centre within a circle wetted by the solvent, and can thus be distinctly detected. The amount of colour developed is proportional to the concentration of the substance in the test solution, and rough quantitative estimations can be made by visual comparison of the coloured spots with the colour of others made from standard solutions. By using a photodensitometer to estimate the amount of colour in such spots it is possible to obtain a much more accurate quantitative estimation.

The Relationship Between Densitometer Reading and Concentration

It is necessary for quantitative estimations to have a simple relationship, ideally linear, between density of colour as measured by the densitometer and concentration. Actually, reflectance measurements on dyed paper should comply with the *Kubelka-Munk* law[15].

$$R_\infty = 1 + \frac{K}{S} - \left[\left(1 + \frac{K}{S}\right)^2 - 1\right]^{1/2} \text{ or } \frac{K}{S} = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty}$$

where R_∞ = monochromatic reflectance of a material of such thickness that a further increase in thickness does not alter the reflectance reading,

K = absorption coefficient (fraction of incident energy lost by absorption per unit thickness of material),

S = scattering coefficient (fraction of incident energy lost due to scattering per unit thickness of material).

Within certain limits, the dye and the paper absorb and scatter light independently of one another. The ratio $\frac{K}{S}$ for the dye is proportional to the amount of dye present. Therefore

$$k\,c = \left[\frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty}\right]_{\text{total}} - \left[\frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty}\right]_{\text{paper blank}}$$

where c = dye concentration, k = a constant.

Because of this the *Kubelka-Munk* law does not hold for the measurements made by the photodensitometer since

1. the coloured spots are not completely opaque; part of the reflectance comes from the background;
2. the colour may not be evenly distributed throughout the spot;
3. a paper blank is used as standard.

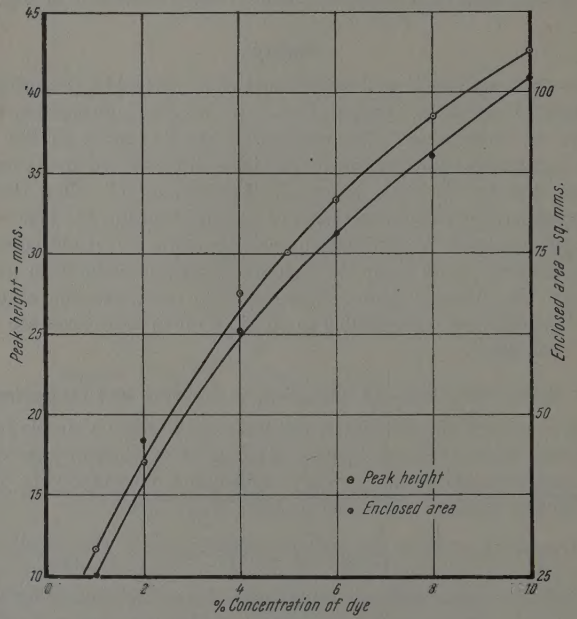


Fig. 2. The Relationship Between Peak Height (Pen Deflection) and Concentration

In fact the technique used makes it difficult to predict a theoretical relationship between densitometer reading and concentration. This relationship was therefore found experimentally using solutions of a blue dye, Solacet Fast Blue. Aqueous solutions of the dye for concentrations of 0.1 to 1% were prepared. Spots of these solutions were placed on filter paper and scanned using the densitometer. Fig. 2 illustrates the results obtained. Two curves are given, one represents a plot of peak height against concentration and the other of total enclosed area against concentration. Both measurements appear to be nearly equivalent but the peak height curve is rather better. As the peak height is so much more readily measured than the enclosed area, the former has always

been used. These results show that a very simple relationship does exist between densitometer reading and concentration. In fact, over a limited concentration there is a linear relationship. The method is therefore quite suitable for quantitative estimations.

Development of the Method

For reflectance measurements to be reproducible two conditions must be fulfilled.

(a) The surface measured should be of constant area;

(b) The colour must be uniform over the surface.

Requirement (a) can be achieved fairly easily by making the spot to be scanned slightly larger than the diameter of the beam of light. In nearly all cases the aperture setting of the densitometer was for a circular slit of diameter 2.5 mm, whereas the spots varied in size from 5 to 10 mm. Conditions to satisfy (a) were therefore fulfilled.

Uniformity of colour was found to be dependent on

1. the type of filter paper used;
2. the volume of solution added to the paper and
3. the method of adding the reagent to the test solution.

Type of Paper

The test solutions were added to the filter paper from a micropipette. To obtain an even distribution of test substance on the paper, it was necessary to add the solution to the paper at approximately the same rate at which the paper adsorbs the solution. If the solution was added too quickly drops of liquid formed on the surface of the paper which spread to give irregular spots; whereas if the solution was added too slowly, the solvent tended to dry off and a series of rings was formed instead of a uniform spot. Drops of coloured solution were added to a variety of different papers (Whatman, No. 1, 4, 3, 42, 54 and 542) until conditions were obtained which gave a reasonably uniform distribution. For aqueous and other mobile solutions, a fairly thick, highly adsorbent paper such as Whatman No. 3, proved to be the best. For more viscous solutions, a thinner paper must be used otherwise too small a spot is obtained because the solvent evaporates off before the solution has time to spread to give a reasonably sized spot. Whatman No. 1 paper was suitable for viscous liquids. When the solvent used was a strong acid, as for solutions of nylon in 98% formic acid, a hardened paper was necessary so Whatman No. 54 was used.

Volume of Solution

When large volumes of solution were added to the filter paper it was difficult to check the spread of the solution and an uneven distribution

was obtained. Frequently rings were obtained instead of spots. Very small volumes of test solution added to filter paper gave very small spots which necessitated the use of a scanning beam of light of even smaller diameter to ensure that the surface measured was of constant area. Reduction in the diameter of the scanning beam reduces the sensitivity of the instrument. The optimum volume was found to be 5 to 10 μl. This gave a spot of size 5 to 10 mm in diameter which enabled a scanning beam of 2.5 mm diameter to be used. It was better to use small spots, provided the sensitivity of the instrument was not reduced too much, as scanning these spots gave sharper peaks which simplified the measurement of peak height.

Experiments showed that it was not possible to increase the concentration of test substance on the filter paper by adding successive drops and drying between the addition of each drop, as a very uneven distribution was obtained, generally a series of rings.

Addition of Reagent

The way in which the test solution was treated with reagent had a considerable effect on the uniformity of colour produced. A very even distribution was obtained when the test spotted paper is exposed to the reagent in vapour form i. e. hydrogen sulphide or ammonia. However it was not possible to use reagents in the vapour phase for all reactions. When solutions are used, dipping the test-spotted filter paper into a solution of the reagent produced more uniform results than spraying the paper with the reagent. Obviously, the reagent needed to form an insoluble compound with the test substance when the dipping technique was used otherwise the product was washed out into the reagent. Reactions which produced an insoluble derivative always gave more uniform spots than reactions resulting in the formation of coloured soluble derivatives, even when the spraying technique was used. Spot tests forming insoluble compounds were therefore chosen for this work.

It was also better to use alcohol or acetone solutions of the reagents instead of aqueous solutions, because the strips of paper dry more rapidly after treatment and a more uniform background colour was obtained. If aqueous solutions were used it was found to be advantageous to blot the paper strips between sheets of clean filter paper to remove excess reagent, before drying. To dry, all the strips were placed on edge in Petri dishes, and were heated to suitable temperatures in drying cupboards. In this way difficulties due to uneven distribution of colour of the background were minimised.

Other methods of treating the test solution with reagents were tried but all were unsuccessful in producing spots of uniform colour. The following methods were investigated.

1. The reagent was added in drops to the test spot. In this case the test substance was generally washed out to form a coloured ring instead of a spot.

2. The test solution was added to paper previously treated with the reagent. However, when the test spots were added to the paper a series of spots was obtained of uniform colour but varying in size. The size of the spot increased with increase in the concentration of the test solution instead of a uniform size spot of varying depth of colour.

Base Line

If there was any appreciable variation in the background colour it was very difficult to obtain a reliable baseline. Precautions must therefore be taken to keep the background as well as the spot of uniform colour.

In addition it was noticed that when the coloured spots were scanned the peaks were very regular except at the base. This was due to a ring formed around the spot by the solvent. This irregularity made it difficult to obtain a good base line. The following procedure was therefore adopted. The first 5 cm of the paper strip were left blank and the test spots were then placed 2 to 3 cm apart. The whole strip was treated with reagent. On scanning, the first 5 cm gave a good line which was taken as the base line. Irregularities at the base of the peaks were ignored.

While no attempt has been made to produce a spot with the colour rigorously constant all over the surface of the spot, conditions have been found which give reproducible results. Table I indicates the results obtained.

Table I

Test substance	Conc. μg	Paper	Reagent	Peak height mm
Solacet Fast Blue ..	50	3	—	39, 39, 39, 40, 42, 40, 43, 40, 39, 40
Nylon	60	54	Solacet Fast Blue	66, 65, 69, 70, 68, 67
Manganese	2	3	Ammoniacal $AgNO_3$	127, 125, 122, 126, 125, 121, 126
Nickel	2	3	Rubeanic acid	80, 81, 80, 80, 79, 80, 77
Nickel	2.5	3	H_2S	46, 47, 50, 45, 46
Copper	2	3	Rubeanic acid	78, 79, 76, 77, 79, 78, 83
Fluoride	2	3	Thorium/amaranth	54, 49, 48, 47, 54, 53, 51
Hexamethylenediamine hydrochloride	1 microequival. N_2H	3	Ninhydrin	56, 60, 58, 58, 62, 61

The conditions to give these reasonably reproducible results were: 5 to 10 μl of test solution added to filter paper to give a spot 5 to 10 mm in diameter (Whatman No. 3 paper for mobile liquids and Whatman No. 1 or 54 for viscous solutions gives these conditions) and the filter paper dipped into the reagent after addition of the test solution.

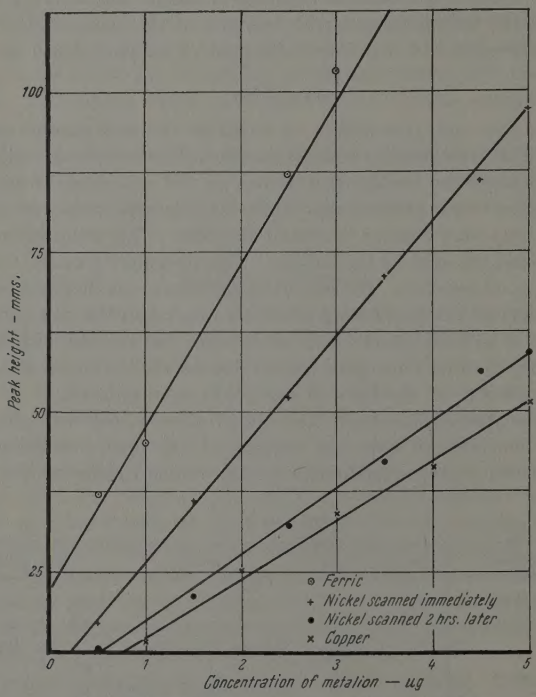


Fig. 3. Calibration Curves for Iron, Copper and Nickel

If the substance was distributed evenly over the surface of the spot, it was sufficient to apply equal volumes of solution in order to obtain the same colour intensity, provided that the paper, and conditions of temperature, humidity etc. were constant. Control samples were therefore always put onto the same paper as the test samples to avoid any such variations.

Applications

The technique described in the previous sections for the quantitative estimation of micro quantities of substances by the measurement of the

colour produced in spot tests using a photodensitometer has been applied to a number of different substances. These include metallic ions, anions, nylon in blends with other fibres and amino compounds. Details of these estimations are given below.

1. The Estimation of Metals as Sulphides

The majority of metals form coloured insoluble sulphides. The solubility of these sulphides, especially in ammoniacal solution, is very low so that the reaction of a metallic ion with hydrogen sulphide forms a sensitive spot test. Solutions of various metallic salts were spotted onto filter paper, exposed to ammonia and then hydrogen sulphide and the coloured spots so formed were scanned using the densitometer. When the sulphide formed was a dark colour, i. e. copper, iron, nickel, good results were obtained. For the metals investigated, copper, ferric iron and nickel a linear relationship of peak-height against concentration was obtained for the concentration range 0.5 to 5 μg. For metals giving lighter coloured sulphides, i. e. manganese and cadmium, poor results were obtained, as there was insufficient contrast between the white paper and the coloured spot. Table II and Fig. 3 show the results obtained. It was noticed that the colour of the sulphide spots faded with time. Scanning of the faded spots gave however another straight line. This fading is therefore unimportant provided control standards are on the same strip as the test solution.

Experimental

A strip of Whatman No. 3 filter paper was cut to fit the strip holder of the densitometer. The metallic salts, copper sulphate, ferric sulphate and nickel sulphate were made up in aqueous solution of concentrations 0.1 to 0.01% of metallic ion. 5-μl spots of these solutions were added to the strips of paper using a micropipette. Without drying, the paper

Table II. Results

Test substance	Peak height in mm for μg									
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Nickel	17	—	36	—	52	—	71	—	86	97
2 h. later	13	—	21	—	32	—	42	—	56	59
Ferric	37	45	—	—	87	103	—	118	—	—
2 h. later	10	18	—	—	35	43	—	49	—	63
Copper	9	14	—	25	—	34	—	41	—	51

Limit: 0.25 μg nickel, 0.1 μg iron, 0.5 μg copper.
Dilution: 50 p. p. m. nickel, 20 p. p. m. iron, 100 p. p. m. copper.

strips were placed in a crystallising dish containing about 10 ml of 0.880 ammonia in a small beaker and covered by a Petri dish. The strips were left in the ammonia atmosphere for 5 minutes and were then exposed to hydrogen sulphide until no further colour developed. After drying, the coloured spots were scanned.

2. The Estimation of Copper and Nickel Using Rubeanic Acid

Although the reaction with hydrogen sulphide is a sensitive test for most metals, there are other tests which are very much more sensitive and specific. A more sensitive test for copper or nickel is the reaction with rubeanic acid (dithioxamide). Copper gives a dark olive green and nickel a blue coloured, water insoluble complex with rubeanic acid and these metals are quantitatively precipitated from strongly ammoniacal solutions by this reagent[16]. This reaction was used therefore to form coloured spots for scanning by the densitometer.

Experimental

The copper sulphate and nickel sulphate were made in aqueous solution of concentration 0.1 to 0.005% of metallic ion. 5-μl quantities of these solutions were applied to Whatman No. 3 paper cut to fit the strip holder of the densitometer. The strip was exposed to 0.880 ammonia for 5 minutes and afterwards passed rapidly through a 0.05% solution of rubeanic acid in methanol contained in a Petri dish. After drying, the strips were scanned.

Table III. Results

Test substance	Peak height in mm for μg					
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Copper....	35	55	86	96	104	126
Nickel	28	49	83	97	109	125

Limit: 0.01 μg copper, 0.02 μg nickel.
Dilution: 2 p. p. m. copper, 4 p. p. m. nickel.

3. Estimation of Manganese Using Ammoniacal Silver Nitrate

On mixing manganese and silver salts with alkalies, a black precipitate is formed which consists of manganese dioxide and metallic silver[16]. This test was used for the estimation of manganese. Spots of manganese salt were added to filter paper which was then dipped into ammoniacal silver nitrate. Black spots were formed in the position of the manganese salt. These spots became more distinct on warming. Unfortunately, the filter paper also reduced the ammoniacal silver nitrate to give a black background and the spots of manganese were then not sufficiently

distinct. It was necessary therefore to remove the excess reagent from the filter paper. This was done by washing in running water. The test was however greatly improved if the washing was carried out with hot water as then the excess reagent was removed at the same time as the heat intensified the colour of the manganese spot. By treating with hot water the sensitivity of the test was increased from 0.05 to 0.02 μg.

Experimental

Aqueous solutions of manganese sulphate were used. 5-μl quantities were added to Whatman No. 3 paper. The paper was passed through a solution of ammoniacal silver nitrate and was then held in running hot water for 2–3 minutes. The paper strips were blotted and scanned.

The ammoniacal silver nitrate was prepared by adding concentrated ammonia to a saturated solution of silver nitrate until the initial black precipitate just dissolved. Another equal volume of ammonia was then added.

Table IV. Results

Conc. μg.....	5.0	4.0	3.0	2.0	1.0	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05
Peak height in mm	151	135	121	101	81	75	66	59	52	23	6

Limit: 0.025 μg manganese. Dilution: 50 p. p. m. manganese.

4. Estimation of Fluoride Ions

Fluoride ions exchange rapidly with the dye molecules of the insoluble thorium–amaranth complex, producing a dye solution which closely approximates *Beer*'s law. The complex may be supported on filter paper. *Lambert* has used this method to estimate fluoride ions by measuring the colour of the dye solution liberated using a spectrophotometer[17]. In the method described below, the colour of the lake on the filter paper before and after treatment was measured by the densitometer instead of the colour of the solution. In this way the volume of test solution was reduced to 0.1 ml.

Experimental

A piece of Whatman No. 1 filter paper was soaked in a 0.2% aqueous solution of amaranth dye. The excess dye was removed by blotting with clean filter paper and drying in an oven at 80° C. Small circles of diameter 5 mm were cut from this dyed paper. These small circles were treated with thorium nitrate solution immediately before use, by immersing for 1 to 2 minutes in a 1% aqueous solution of thorium nitrate, washing with distilled water and then blotting with filter paper to remove excess water. The circles were used damp.

0.1 ml of fluoride solution was placed in a microbeaker together with one of the circles of filter paper impregnated with the thorium–amaranth lake. The solution was stirred several times, and at the end of 5 minutes the paper was removed, blotted and mounted on white paper. The most effective method of mounting found was to fit the circle into holes of the same size cut in a strip of filter paper. The circles were scanned in the usual way before and after treatment. Great care must be taken in mounting the samples. If the circles do not fit into the holes very well, variable results are obtained on scanning. The difference in peak heights before and after treatment with the fluoride solutions was taken as the densitometer reading.

Table V. Results

Conc. μg	Blank	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Densitometer reading mm	14.2	21	29.5	39.5	50.5	65.5

Limit: 0.25 μg fluoride ion. Dilution: 2.5 p. p. m. fluoride ion.

5. Estimation of Polyamides in Blends With Other Fibres

With the exception of cellulose acetate, polyamide fibres are the only ones which dissolve in cold formic acid. Acetate may easily be detected as it is soluble in acetone whereas polyamides are not. When a blend of nylon (polyamide) with other fibres is treated with 98% formic acid therefore only the nylon dissolves. If the concentration of nylon in this solution can be estimated then the amount of nylon in the blend can be calculated. A simple micro method of estimating nylon in solution would be to put spots of the nylon solution onto filter paper, colour the nylon spots and scan with the densitometer. Unfortunately, there is no simple colorimetric reaction to detect nylon. It can however be dyed readily and provided the colour of the dyed nylon is proportional to concentration this gives a simple method of estimating nylon.

Solutions of nylon of various concentrations were therefore prepared and 0.01-ml spots were added to a strip of Whatman No. 54 filter paper. The whole was dyed with Solacet Fast Blue. The nylon appeared as dark blue spots on a paler blue background, which could be scanned in the usual way. Table VI and Fig. 4 shows the relationship between peak height and concentration.

Table VI

Conc. μg	100	80	60	40	20	10
Peak height in mm	89	86	71	56	38	19

Limit: 5 μg nylon. Dilution: 0.05% or 500 p. p. m.

The shape of the curve in Fig. 4 is the same as Fig. 2 and is linear over limited ranges of concentration. This method of dyeing nylon spots with Solacet Fast Blue can therefore be used to estimate quantitatively the amount of nylon in solutions.

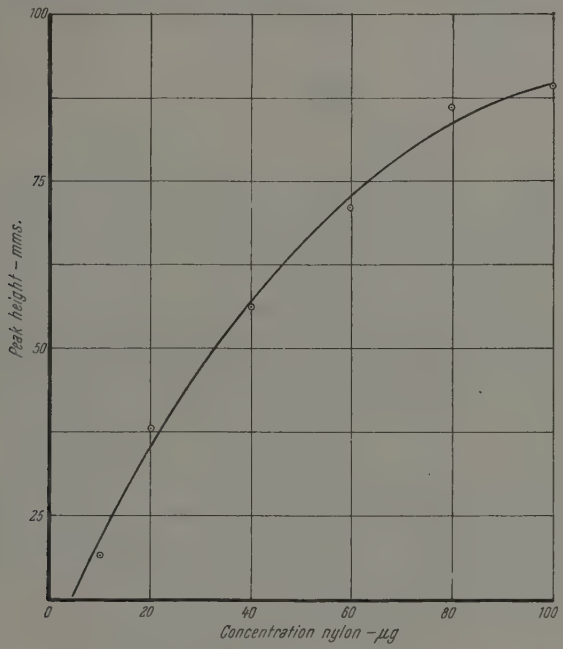


Fig. 4. Calibration Curve for Polyhexamethylene Adipamide (Nylon 6.6)

The method of estimating nylon in blends consists merely of treating the blend with formic acid, spotting filter paper with the solutions obtained, dyeing the paper and estimating the amount of colour in the spots by scanning with the densitometer.

The main disadvantage of the dyeing method of detecting nylon is that the original sample must be undyed. Dyed samples must be stripped, unless the dye is insoluble in formic acid. Stripping can usually be carried out using a chlorite or sulphite/sulphide bleach. Actually this difficulty of removing dyes applies to any method of estimating nylon in blends, since the dye content of a fabric is frequently an appreciable percentage of the total weight.

The main advantage of the method is in the very small size of sample which can be used, about 5 mg. Care must be taken when dissolving

the sample in formic acid to prevent adsorption of the acid onto the other component of the blend. This is done by immersing the sample in water, squeezing between pads of filter paper to remove the water, and then dissolving the sample in formic acid. It should also be remembered that when dealing with blends errors can be introduced through sampling. A series of cross sections of the fibre gives the most uniform sample.

Experimental

Nylon in blends with cotton, wool and viscose were used.

A weighed sample of the nylon blend was immersed in water for about 1 minute. It was then squeezed between pads of filter paper to remove the water and placed in a microbeaker. A known volume of 98% formic acid was added. The ratio of volume of formic acid to weight of sample was 10 : 1. The mixture was allowed to stand for 5 to 10 minutes with occasional stirring, when the nylon dissolved. 0.01-ml quantities of the resulting solution were spotted onto a strip of Whatman No. 54 filter paper, using a micropipette. The formic acid was removed by drying in an oven at 80° C. The whole strip was then dyed by immersion in a dye bath containing a 0.1% solution of Solacet Fast Blue 2 BS in 0.1% acetic acid, at 80° C for 5 minutes. After dyeing, the strips were washed in hot water, blotted and dried at 80° C. The blue spots of nylon were scanned using the densitometer.

Table VII indicates the results obtained using white samples, and some coloured samples, the colour of which had been removed with a sulphite/sulphide or chlorite bleach.

Table VII. Results

Undyed samples

Blend	% nylon as quoted by manufacturer	Nylon estimated %
Nylon/wool	25	25.8, 27.2, 26.3
„	50	44.0, 47.2, 49.6
„	20	26.3, 25.2, 25.2
„	25	23.9, 26.2, 28.6
„	50	47.0, 48.5, 49.0
Nylon/viscose	16.6	14.6, 12.7, 13.5
Nylon/cotton/fibro	16.6	17.0, 12.8, 15.9
Nylon/wool/rayon/mohair	5	4.9, 4.9, 5.8
Nylon/cotton	10	15.0, 14.0, 12.0
„	16.6	18.2, 14.0, 16.0

It should be noted that the content quoted by manufacturers is not particularly accurate when checked by any method.

Dyed samples

Blend	% nylon as quoted by manufacturer	Nylon estimated %
Nylon/wool	25	26.6, 27.8, 27.0, 26.6
„	60	47, 50, 55.5, 52.5
„	25	27, 27, 27, 28
„	60	62, 57, 57
Nylon/Ardil/Viscose	15	18.5, 16.3, 15.6
Nylon/viscose	10	12.5, 9.5, 10.1
Nylon/wool/mohair/rayon	5	8, 6.5, 6.8

6. Estimation of Amines and Amino-acids With Ninhydrin

One of the most sensitive methods of detecting and estimating amines and amino-acids is based on their reaction with ninhydrin. When amines or amino-acids react with ninhydrin in solution it is necessary to buffer the solution to obtain the characteristic purple colour. This however is not necessary if spots of the amino compounds are placed on paper and dried before treatment with ninhydrin. A method of estimating the amino-ninhydrin colour on paper instead of in solution is therefore an advantage.

Experimental

Two amino compounds were used, α-amino-caproic acid and hexamethylene diamine hydrochloride. These compounds were made up in aqueous solutions. Spots of the aqueous solutions were placed on Whatman No. 3 paper, and were dried in an oven at 100° C. The paper was then dipped into a 0.1% solution of ninhydrin in acetone, and was finally heated in an oven at 100° C for 5 minutes. The purple spots so formed were scanned using the densitometer.

Table VIII. Results

α-Amino caproic acid

Conc. micro equiv.	1.0	0.75	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Peak height (mm)	78	68	60	50	42	35	26

Hexamethylene diamine hydrochloride

Conc. micro equiv.	1.06	0.8	0.53	0.42	0.32	0.11	0.05
Peak height (mm)	47	40	35	30	25	17	11

Limit: 0.02 micro equiv. α-amino caproic acid,
0.04 micro equiv. hexamethylene diamine hydrochloride.
Dilution: 4 p. p. m. α-amino caproic acid,
8 p. p. m. hexamethylene diamine hydrochloride.

In conclusion, the following advantages can be claimed by the methods described in this paper: in most cases the method is much faster than conventional chemical methods; its accuracy 2 to 5% is as good as that of the normal colorimetric methods about 3%, and very small samples can be analysed. Moreover it appears possible to develop analogous methods for the determination of any given substance.

Acknowledgment

The author is indebted to British Nylon Spinners Ltd. for permission to publish these results and to Miss *B. Cobb* who carried out some of the experimental work. It is also a pleasure to record the help given by Joyce, Loebl and Co. Ltd.

Summary

The colour developed during certain spot tests has been measured using a reflectance photodensitometer. In this way a quantitative estimation of the amount of substances present in the test solution has been made. The relationship between densitometer reading and concentration of test substance, and the best method of obtaining uniform colour in the spots are discussed. Several substances have been analysed by this method, for which only 5 to 10 μl of solution are required. 5 to 0.2 μg of metallic ions, 100 to 5 μg of polyamide and 1 to 0.05 micro-equivalents of amino nitrogen can be determined. Precision compares well with other colorimetric methods.

Zusammenfassung

Die bei einigen Tüpfelreaktionen entwickelte Farbe wurde mit einem Reflexions-Photodensitometer gemessen. Dies ermöglicht eine quantitative Beurteilung der in der Probelösung vorhandenen Menge Substanz. Das Verhältnis zwischen den Densitometerablesungen und der Konzentration der Probelösung sowie die beste Methode der Herstellung gleichmäßig gefärbter Tüpfelflecke werden besprochen. Mehrere Substanzen wurden mit Hilfe dieser nur 5 bis 10 μl benötigenden Methode untersucht. 5 bis 0,2 μg eines Metall-Ions, 100 bis 5 μg eines Polyamids und 1 bis 0,05 Mikro-Val Amino-Stickstoff können bestimmt werden. Ein Vergleich der Genauigkeit der Methode mit der anderer kolorimetrischer Methoden fällt vorteilhaft aus.

Résumé

A l'aide d'un photodensimètre à réflexion, on a mesuré la couleur qui apparaît au cours de certains essais à la touche. Il a été ainsi possible d'estimer quantitativement les teneurs de substances présentes dans des solutions soumises à l'étude. Les relations existant entre les lectures densitométriques et les concentrations des substances étudiées sont discutées par l'auteur ainsi que la meilleure méthode d'obtention de taches de couleurs uniformes. Plusieurs substances ont été analysées à l'aide de cette méthode

qui ne nécessite que 5 à 10 μl de solution; on peut ainsi doser 5 à 0,2 μg d'ions métalliques, 100 à 5 μg de polyamides et 1 à 0,05 microéquivalents d'azote aminé. La précision obtenue est comparable à celle des autres méthodes colorimétriques.

References

[1] *R. B. Fisher, D. S. Parsons* and *G. A. Morrison*, Nature **161**, 764 (1948).
[2] *E. Beerstecher*, Analyt. Chemistry **22**, 1200 (1950).
[3] *T. Wieland* and *L. Wirth*, Angew. Chem. **63**, 171 (1951).
[4] *R. J. Block*, Science **108**, 608 (1948).
[5] *B. N. Bull, H. W. Hahn* and *V. H. Baptist*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 550 (1949).
[6] *L. B. Rockland, J. L. Blatt* and *M. S. Dunn*, Analyt. Chemistry **23**, 1142 (1951).
[7] *S. V. Vaeck*, Analyt. Chim. Acta **10**, 48 (1954).
[8] *S. V. Vaeck*, Analyt. Chim. Acta **12**, 443 (1955).
[9] *S. V. Vaeck*, Nature **172**, 213 (1953).
[10] *E. F. McFarren, Kathleen Brand* and *H. R. Rutkawski*, Analyt. Chemistry **23**, 1146 (1951).
[11] *R. S. Block*, Analyt. Chemistry **22**, 1327 (1950).
[12] *A. C. Bladine* and *L. F. Leloir*, Analyt. Chemistry **24**, 1024 (1952).
[13] *E. H. Winslow* and *H. A. Liebhafsky*, Analyt. Chemistry **21**, 1338 (1949).
[14] *A. L. Latner, L. Molyneux* and *J. Dudfield Ross*, J. Lab. Clin. Med. **43**, 157 (1954).
[15] *P. Kubelka* and *F. Munk*, Z. techn. Physik **12**, 593 (1931).
[16] Compare *F. Feigl*, Spot Tests, 4th ed., Vol. I. Amsterdam: Elsevier. 1954. p. 145, 169.
[17] *J. Lambert*, Analyt. Chemistry **26**, 558 (1954).

From the Oceanography Department, The University, Liverpool

Determination of Soluble Phosphate, and Total Phosphorus in Sea-Water and of Total Phosphorus in Marine Muds

By

J. D. Burton and **J. P. Riley**

With 1 Figure

(Received January 9, 1956)

Phosphorus occurs in the oceans in the form of dissolved and particulate inorganic phosphate (1–60 mg PO_4^{3-}—P/m^3) and also as dissolved and particulate organic phosphorus compounds (0–16 mg P/m^3)[1]. The biological importance of the element led to early attempts (after preliminary concentration) to determine the phosphate content of sea-water[2,3], but it was only after *Atkins*[4] had applied *Denigès*'[5] molybdenum blue method to the analysis of sea-water that it became possible to examine large numbers of samples. The method has been modified by several workers[6–10] and several causes of error have been investigated[11,12]. *Harvey*[13] has further developed the method for the determination of phosphate in sea-water and has found the optimum conditions of acidity and molybdate concentration for the formation of phosphomolybdic acid, and for the reduction of the heteropoly acid by stannous chloride. Recently *Proctor* and *Hood*[14] have increased the sensitivity of the method by extracting the molybdenum blue into isobutanol before photometric measurements.

The use of stannous chloride for the reduction of phosphomolybdic acid in *Harvey*'s method is attended by several disadvantages:

1. The stannous chloride reagent is not stable, and should be prepared daily; the use of oxidised reagent gives a green coloration[12].

2. The time taken for maximum colour development varies with temperature and with the salinity of the water.

3. The colour fades rather rapidly, and colour measurements must therefore be made at a definite time after adding the stannous chloride reagent; this is a considerable disadvantage if many determinations have to be made.

4. The colour intensity developed is temperature dependent increasing by about 1% per °C[10,11].

5. There is a fairly large salt error[13].

6. Different batches of molybdate reagent give somewhat different extinctions with the same quantity of phosphate[13].

7. Arsenate and arsenite interfere, ferric iron also interferes if present in amounts which, while considerably larger than those usually found in sea-water, are encountered with mud samples. *Levine* et al.[15] have prevented interference of arsenic in the determination of phosphate in sea-water by coprecipitating phosphate as aluminium phosphate with aluminium hydroxide, and volatilising away arsenic as chloride before determination of phosphorus colorimetrically in the residue.

8. Copper reduces the colour intensity considerably.

A number of other reducing agents have been used from time to time for the reduction of phosphomolybdic acid to molybdenum blue, but except for ascorbic acid[16], all give much less colour than stannous chloride, and are not sufficiently sensitive for the determination of the very low concentrations of phosphate found in fresh and marine waters.

Until recently studies of phosphorus in sea-water have been mainly concerned with soluble inorganic phosphate and its relation to plankton populations. *Redfield* et al.[17], however, have drawn attention to the importance of determinations of total phosphorus, rather than simply soluble phosphate, as an indication of the organic productivity of a region. *Cooper*[18] has shown how measurements of total phosphorus may be used in physical oceanography.

The determination of total phosphorus in sea-water involves a preliminary oxidation of the organic matter followed by determination of the resultant inorganic phosphate. Several reagents have been employed for this oxidation: the use of hydrogen peroxide[19] has been criticised by *Kalle*[20,21], who recommended potassium persulphate or sulphuric acid with a trace of copper salt. *Berger*[22] found all these reagents to be unsatisfactory and advocated the use of fuming nitric acid. *Robinson* and *Kemerer*[23] employed a mixture of nitric and sulphuric acids followed by hydrochloric acid. *Cooper*[24] attempted to apply this method and that of *Titus* and *Meloche*[25] to the determination of phosphorus in plankton but found that residual traces of oxidising agents caused difficulties in the colorimetric determination; he therefore recommended the use of hydrogen peroxide and sulphuric acid. For the determination of total phosphate in sea-water the same worker[26] fumed the sample to dryness with sulphuric acid in a platinum dish and fused the residue. *Robinson*[27] used perchloric acid for the digestion of lake water samples; the same reagent has been utilised by *Redfield* et al.[17], *Rochford*[28], and *Hansen*

and *Robinson*[29] for the determination of total phosphorus in sea-water. *Matida*[30] has made a comparative study of some of these methods.

Harvey[13] has described a method for the determination of total phosphorus in sea-water in which the samples are decomposed by heating with dilute sulphuric acid in an autoclave at 130°, in the presence of sulphite to prevent the interference of arsenic. *Pratt*[31] has expressed doubts about the validity (as absolute values) of the results obtained by *Harvey*'s procedure, but *Ketchum* et al.[32] have claimed a standard deviation of 5% for the method, which they have used for the analysis of nearly 1000 samples from the Atlantic.

Levine et al.[33] decompose organic phosphorus compounds in sea-water by heating the salts obtained by evaporation of 100 ml of the sample to 600°.

Unfortunately in very few cases have the published total phosphorus methods been tested by determination of the recovery of phosphorus from waters containing known quantities of even moderately resistant organic phosphorus compounds. The use of sodium glycerophosphate, casein[13] and adenosine-5-phosphoric acid[32] as the sole tests for a decomposition procedure is scarcely justifiable since all these compounds are very readily hydrolysed. Many organic phosphorus compounds are surprisingly resistant to acid hydrolysis; thus *Gourley*[34] found that 2,3-diphosphoglyceric acid was only 62% hydrolysed after heating with concentrated nitric acid on a hot plate and then raising to fuming with perchloric acid; similar results were found by *Hardin* and *MacIntire*[35] for aryl phosphates using hydrochloric and nitric acids.

In preliminary experiments in this laboratory, water samples containing known amounts of groundnut lecithin and tricresyl phosphate (ca. 3 μg P) were analysed by *Harvey*'s method[13]. For duplicate determinations recoveries of phosphorus of 62.5% and 48.3% and of only 2.6% and 4.6% respectively were obtained. The procedure of *Hansen* and *Robinson*[29], despite the taking of precautions not described in the original paper, gave very erratic results from which no real conclusions could be drawn.

A knowledge of the phosphorus content of muds is of considerable importance in estuarine and shallow water ecology since the mud acts as a reservoir of phosphorus for the water above it. *Moore*[36] has employed an extraction process for the determination of phosphate in muds. *Rochford*[28] has applied digestion with sulphuric and perchloric acids to mud analysis. We have successfully used the method proposed by *Baadsgaard* and *Sandell*[37] for the determination of phosphorus in silicate rocks, as a referee method for the analysis of muds.

The present paper is an account of work carried out to find a reducing agent for the reduction of phosphomolybdic acid in a sea-water medium

which possesses at least the same sensitivity as stannous chloride, but is free from its several disadvantages. The use of perchloric acid for the determination of total phosphorus in sea-water and marine muds has been investigated and developed.

The Colorimetric Determination of Phosphate

In the course of earlier work in these laboratories[38], it was found that when *p*-methylaminophenol sulphate (metol) was used at room temperature for the reduction of phosphomolybdic acid, it yielded a molybdenum blue complex having a very broad absorption band of comparatively low intensity (Fig. 1). If, however, the reduction was carried out with metol at 100°, the absorption band was much narrowed and its maximum shifted in the direction of longer wavelength; the extinction was increased approximately tenfold (Fig. 1). The change in the shape of the absorption band is presumably connected with variations in the range of particle sizes of the colloidal micelles of which the molybdenum blue complex is composed. The acidity of the solution also has an effect on the wavelength of maximum absorption (Fig. 1).

Initially experiments were carried out using concentrations of sulphuric acid and ammonium molybdate (final concentrations of ca. 0.10 N and 0.5 g/l respectively) for the formation of phosphomolybdic acid which were similar to those which we have used for the determination of phosphorus in organic compounds[38]. In order to obtain the maximum sensitivity and to reduce interference from silicon, the effect of variation of the metol and sodium sulphite concentrations on the reduction of phosphomolybdic acid at 100° was investigated. It was found that the final metol concentration could be varied from 0.1–1 g/l with no appreciable change in the optical density. The sodium sulphite concentration, on the other hand, affected the rate of colour formation; with an overall concentration of 11 g/l of sodium sulphite the reaction was complete in two hours. In all subsequent work final concentrations of 1 g/l of metol and 11 g/l of sodium sulphite was employed. Although at first reproducible results were obtained using these conditions (coefficient of variation 0.4% with 20 μg PO_4—P), it was found that if the same flasks were used several times for the colour development, high and erratic values resulted, especially at high phosphate concentrations. These variations were attributed to solution of silica and perhaps phosphorus from the walls of the flasks. Attempts to render the flasks insoluble and the use of silica or Pyrex vessels produced no improvement. Experiments were therefore carried out in an endeavour to reduce the sensitivity of the reaction to silicate.

Neither change of the sodium sulphite concentration nor addition of acid or alkali after the reduction affected the sensitivity of the reaction

to silicon. The effect of variation of the initial sulphuric acid concentration, together with concurrent variation in the amount of sodium sulphite added, was next studied, in order to obtain the correct conditions of acidity for the reaction. When the formation of phosphomolybdic acid

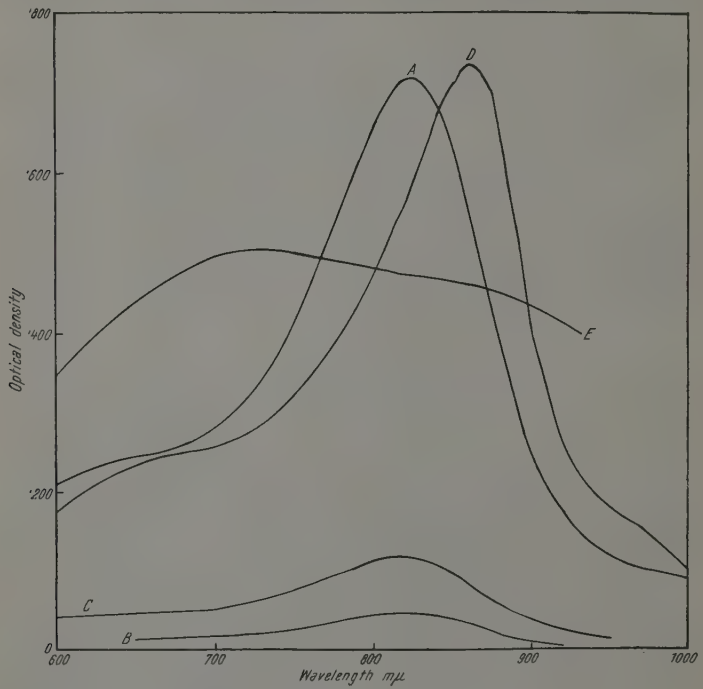


Fig. 1. Absorption curves of molybdenum blue formed under various conditions
All solutions contain 2 ml of 1.3% ammonium molybdate reagent and are in final volumes of 50 ml. The colour was developed in each case for 2 hours
A 5 μg PO_4^{3-}—P. 10 ml of 10% *v/v* sulphuric acid. 5 ml of sulphite-metol reagent (11%, 1%). At 100°. Measured in 7.62-cm cell. *B* Blank corresponding to *A*. *C* As *B*, with 500 μg silicon. *D* As *A*, but with 1.5 ml of 10% *v/v* sulphuric acid. *E* 200 μg PO_4^{3-}—P. 1.5 ml of 10% *v/v* sulphuric acid. 2.5 ml of sulphite-metol reagent (11%, 1%). At 20°. Measured in 1-cm cell

was carried out in 0.9 N sulphuric acid and the reduction with metol was performed in the presence of 11 g/l of sodium sulphite it was found possible to retain the high sensitivity of the method for phosphate while reducing the interference from silicon to negligible proportions. The wavelength of maximum absorption of the molybdenum blue formed under these conditions was at 820 mμ.

Employing these conditions the rate of colour development at 100° was studied using 40-ml samples of distilled water containing 0.5 mg PO_4^{3-}—P/l. The results (Table I) show that very little increase in the optical density occurred after two hours heating, and this period was therefore used in all subsequent work. The cooled solutions were very stable; in distilled water the increase in optical density after 17 hours storage was 1.2%; in sea-water 2.3% after 21 hours.

Table I. Rate of colour development at 100°

Hours	1	1.5	2	3	7
Optical density of blank*	0.006	0.006	0.008	0.009	0.012
Optical density with 0.5 mg PO_4^{3-}—P/l *	0.357	0.362	0.366	0.371	0.369

* Measured in 1-cm cell.

Decomposition of Organic Phosphorus Compounds

Consideration of earlier work led to the conclusion that the only satisfactory method for the determination of total phosphorus in sea-water would involve evaporation of the water sample followed by oxidative decomposition of the organic matter with strong acid at high temperature. Since such conditions lead to the formation of pyrophosphate from phosphate, experiments were carried out to determine suitable conditions for the reconversion of pyrophosphate to orthophosphate. It was found that complete decomposition of the former could be obtained by heating on the water bath with 10 ml of 10% *v/v* sulphuric acid for 15 minutes.

Preliminary experiments to establish the optimum conditions for the wet oxidation of organic phosphorus compounds in sea-water were carried out using tricresyl phosphate. An artificial sea-water (10 ml) to which 1 ml of a carbon tetrachloride solution of tricresyl phosphate (3 μg P) had been added was evaporated under an infra-red heater; after wet oxidation, the residue was warmed for 15 minutes on the water bath with 10 ml of 10% sulphuric acid and the resultant phosphate determined as described in the experimental section. When 0.5 ml of 60% perchloric acid was added before evaporation, and the residue heated until fumes of perchloric acid were evolved, as described by *Hansen* and *Robinson*[29], only poor recoveries of phosphate were found. Evaporation to complete dryness in the presence of 0.5 ml of 60% perchloric acid oxidised variable amounts (2–20%) of the added tricresyl phosphate. With 1 ml of 60% perchloric acid a 75% recovery of phosphorus was found, but better recoveries than this were not obtained by further increase of the amount of perchloric acid used. When the evaporation and fuming to dryness was carried out in the presence

of 0.5 ml of concentrated nitric acid in addition to 1 ml of perchloric acid recoveries of phosphorus ranging from 82.2% to 94.3% were obtained from a series of determinations on tricresyl phosphate. Increase of the volume of concentrated nitric acid to 1 ml gave very consistent recoveries of phosphorus, complete within experimental error. It was found essential to heat the evaporated residues under the infra-red heater for some time after all visible fuming had ceased, since any traces of nitric acid remaining interfere with the subsequent colorimetric determination. This has the further advantage that the residue is almost neutral and does not require neutralisation before analysis.

Methods

All measurements of optical density were made with a Unicam S. P. 500 spectrophotometer, against distilled water in the compensator cell.

Reagents

1. *Sulphite-metol reagent.* Dissolve 2.5 g of metol (*p*-methylaminophenol sulphate) in ca. 200 ml of distilled water. Add 55 g of hydrated sodium sulphite and shake until all the solid has dissolved. Dilute to 250 ml and filter through a fine grained filter paper. The solution, which should be preserved in an amber glass bottle, is stable for several months.

2. *Ammonium molybdate.* Dissolve 1.3 g of ammonium molybdate in distilled water, dilute to 100 ml. Store the solution in a polyethylene bottle.

3. *Sulphuric acid, 50% v/v.* Dilute 50 ml of concentrated sulphuric acid to 100 ml.

4. *Nitric acid, concentrated.*

5. *Perchloric acid, 60% w/v.*

6. *Stock phosphate solution.* Dissolve 0.1757 g of potassium dihydrogen phosphate in distilled water and dilute to 1 l. This solution, which contains 40 mg PO_4^{3-}—P/l, should be preserved in a dark glass bottle.

7. *Dilute phosphate solution.* Prepare freshly, as required, from the stock phosphate solution a solution containing 0.2 mg PO_4^{3-}—P/l.

Treatment of Apparatus

Allow the graduated flasks and silica basins to stand overnight with a 1 : 1 mixture of concentrated nitric and sulphuric acids and then wash thoroughly. Treat the Pyrex conical flasks to be used for the reduction of phosphomolybdic acid with 10% sodium hydroxide at 100° for 30 minutes, rinse and then heat to 100° with a 1 : 1 mixture of concentrated nitric and sulphuric acids for a further 30–60 minutes. After a thorough washing, drain the flasks but do not dry by heating.

Determination of Inorganic Phosphate in Sea-Water

Pipette 40 ml of the sea-water into a 50-ml graduated flask, add 2 ml of 50% sulphuric acid, and 2 ml of ammonium molybdate solution, after 5 minutes add 5 ml of the sulphite-metol reagent. Transfer the liquid to a loosely stoppered Pyrex flask and heat in a bath of boiling water for 2 hours. Cool for 10 minutes, and then measure the optical density of the solution at 820 mμ. Determine the reagent blank in the same manner, but omitting the sample. Calibrate the method using the dilute standard phosphate solution in distilled water. To evaluate the calibration curve for sea-water apply the salt error corrections given in Table III. The calibration remains constant for many months, and is independent of changes in the batches of reagent.

Determination of Total Phosphorus in Sea-Water

Pipette 15 or 20 ml of the sea-water sample into a 7.5-cm diameter silica basin, add 1 ml of concentrated nitric acid and 1 ml of 60% perchloric acid. Evaporate under a Vitreosil infra red heater until all traces of perchloric acid have been removed (about 1 hour). Allow the basin to cool, wash the salts into the bottom with about 20 ml of distilled water and add 2 ml of 50% sulphuric acid. Heat on the water bath for 10 minutes, cool, and transfer the solution to a 50-ml graduated flask. Add 2 ml of ammonium molybdate solution and determine the phosphate as described above. Carry out a blank determination in the same manner using 15 or 20 ml of distilled water instead of the sea-water sample.

Determination of Total Phosphorus in Muds

The phosphorus content of muds may vary over a considerable range, up to at least 800 μg P/g. Weigh out 0.5–1.0 g of the dried (110°) mud into a silica basin. Smaller weights may be taken, but the statistical error will be much increased. Moisten the sample with water and stir until it reaches the consistency of a thin cream. Cover the basin with a clock glass and then add 2 ml of concentrated nitric acid and 2 ml of 60% perchloric acid. When all effervescence has ceased, rinse and remove the cover glass. Evaporate the liquid under an infra-red heater or on a hot-plate until most of the perchloric acid is removed. Add a further 1 ml of 60% perchloric acid and heat until the acid fumes cease to be evolved. Treat the cold residue with ca. 20 ml of water and 2 ml of 50% sulphuric acid and warm to 100° for 10 minutes to aid solution of the phosphate and to decompose any pyrophosphate. Filter off the siliceous residue and wash it well with water, dilute the filtrate to 250 ml. Carry out the determination of inorganic phosphate on a 5- or 10-ml aliquot of this solution as described above. Perform a blank estimation

in the same manner but omitting the mud sample. If the sample is rich in organic matter it is preferable to ignite the sample at 500° before digesting with perchloric acid.

Beer's Law and Reproducibility

Various amounts of phosphate (1–40 μg P) in 40 ml of distilled water were examined according to the procedure described in the experimental section, the optical densities being measured at 820 mμ in cells of the appropriate length. The results which are shown in Table II indicate that a high degree of reproducibility is attained and that *Beer*'s law is obeyed up to a concentration of at least 1 p. p. m.

Table II. Determination of phosphorus

PO_4^{3-}—P μg	No. of determinations	Mean optical density * (7.62-cm cell)	Mean deviation %	Deviation from linearity %
1	3	0.131	0.6	— 1.5
2	3	0.270	0.1	+ 1.1
4	6	0.535	0.2	+ 0.2
6	3	0.792**	0.3	— 1.1
8	3	1.059**	0.2	— 0.7
10	3	1.326**	0.0	— 0.6
15	3	2.005**	0.4	+ 0.2
20	3	2.690**	0.0	+ 0.8
25	3	3.376**	0.7	+ 1.2
30	3	4.032**	0.4	+ 0.7
40	3	5.456**	0.1	+ 2.2***

* Less reagent blank at 820 mμ.
** Measured in 1-cm cell, calculated for 7.62-cm cell.
*** Omitted from calculation of mean slope.

Note: Amount of phosphorus (μg) $= \frac{\text{optical density}}{0.1334}$

Salt Error

The effect of the presence of the salts of sea-water on the intensity of the molybdenum blue colour developed in this medium has been investigated. Aliquots (0.5 ml) of a solution containing 8 mg PO_4^{3-}—P/l were added to 40-ml samples of filtered sea-waters and of diluted sea-waters. In every case duplicate determinations of phosphate were made on both the sea-water and the phosphate enriched sea-water. The results, which are given in Table III, show that the salt error in oceanic waters is approximately 1%, compared with ca. 20% when the reduction of phosphomolybdic acid is carried out with stannous chloride.

Table III. Salt error corrections

Sea-water Cl ‰	0	4.88	9.76	14.57	19.42
Mean optical density change for 4 μg PO_4^{3-}—P*	0.535	0.526	0.521	0.522	0.529
Salt error %	0.0	— 1.7	— 2.6	— 2.4	— 1.1

* 7.62-cm cell.

Interferences

The possible interferences of several ions were investigated by carrying out determinations of 4 μg PO_4^{3-}—P in 40 ml of distilled water in the presence of these ions. Determinations were also performed under the same conditions, but in the absence of added phosphate. No interference was experienced with 10 p. p. m. of iron or with 500 p. p. m. of aluminium, borate, calcium, magnesium, manganese or sodium. Interference was caused by 500 p. p. m. of copper due to absorption by the shoulder of the absorption band of the cupric ion at 800 mμ, but it was found possible to compensate for this by measuring the optical density of an aliquot of the sample at 820 mμ, and subtracting it from the optical density found in the determination. The effects of arsenic, silicon, germanium and vanadium, all of which, under suitable conditions, can be made to give molybdenum blue complexes are shown in Table IV.

Table IV. Interferences of certain elements

Element	Added as	Concentration of element p. p. m.	Optimum density at 820 mμ · 7.62-cm cell		
			No PO_4^{3-}—P	4 μg OP_4^{3-}—P	Difference
—	—	—	0.055	0.586	0.531
Arsenic	arsenate	0.1	0.071	0.622	0.551
Arsenic	arsenate	1.0	0.268	0.863	0.595
Arsenic	arsenite	0.1	0.064	0.598	0.534
Germanium	germanate	1.0	0.143	0.671	0.528
Silicon	silicate	10.0	0.120	0.648	0.528
Vanadium	vanadate	500.0	1.212	1.760	0.549

Normally the silicate content of sea-water lies in the range 5–500 μg Si/l[1] and at these levels interference with the determination of phosphorus will not occur. In Antarctic waters concentrations of up to 3 mg Si/l may occur[39]; in such waters the phosphorus concentration is normally high, so that correspondingly smaller samples can be taken, or conversely the silicate can be determined in the sample[40] and allowance made for its presence.

The arsenic content of sea-water has been reviewed by *Smales* and *Pate*[41]; it appears that the high concentrations reported by certain earlier workers (25 μg As/l) are in error and that the arsenic content is variable and lies in the range 2–5 μg As/l. The presence of even 25 μg As/l produces only a slight error in the proposed method, but it is interesting to observe that the presence of much arsenic enhances the colour of the molybdenum blue formed from phosphomolybdic acid. Neither vanadium nor germanium will cause interference at the levels at which they occur in sea-water (3–4 μg V/l[42] and < 0.1 μg/l[43] respectively).

Analysis of Known Organic Phosphorus Compounds

The efficiency of the wet oxidation procedure was investigated using known weights of a number of different types of organic phosphorus compounds, which had been previously analysed for phosphorus[38]. The compounds (representing ca. 2–4 μg of phosphorus per determination) were added, as a solution in carbon tetrachloride, to 15 ml of artificial sea-water contained in a 7.5-cm silica basin. After evaporation of the carbon tetrachloride on the water bath, the total phosphorus was determined by the proposed method. Total phosphorus was determined on the same volume of the artificial sea-water, the difference between these two values gave the organic phosphorus recovered. The results (Table V) show that consistent results were obtained, the recovery of phosphorus being complete within experimental error.

Table V. Analysis of known phosphorus compounds

Compound	Formula	% P*	Determinations		Phosphorus μg		
			No.	Mean deviation %	Taken	Found	Recovery
1 : 3-Dilauryl kephalin .	$C_{29}H_{58}O_8NP$	5.36	4	0.4	2.79	2.70	96.8
Ditetradecyl phosphate .	$C_{28}H_{59}O_4P$	6.13	3	0.1	3.12	3.22	103.2
Sodium salt of tetradecyl phosphate	$C_{28}H_{61}O_8P_2Na$	9.82	8	1.6	3.02	2.97	98.4
2′-Phthalylidoethyl-diphenyl phosphate ..	$C_{22}H_{18}O_6NP$	7.27	4	1.7	1.95	2.01	103.1
2′-Aminoethyldiphenyl phosphate	$C_{14}H_{16}O_4NP$**	11.20	4	0.2	4.40	4.50	102.3
Diphenyl phosphate	$C_{12}H_{11}O_4P$	12.14	5	0.6	3.86	3.82	99.0
Diphenylamido-phosphate	$C_{12}H_{12}O_3NP$	12.42	4	0.3	3.80	3.78	99.5
Tricresyl phosphate	$C_{21}H_{21}O_4P$	8.20	4	0.4	3.32	3.27	98.5
Lecithin (Groundnut) ..	—	2.69	3	0.7	2.30	2.35	102.2

* Experimentally determined phosphorus content[38].
** Impure specimen.

When the proposed method was used with triphenylphosphine (which contains three phosphorus-carbon linkages) very low recoveries of phosphorus were obtained (ranging from 11.2 to 42.5%). *Davies* and *Davies*[39] have attributed the resistance of compounds of this type to wet oxidation to the high stability of the initial oxidation product. Since such compounds do not occur in nature, they were not studied further.

Application of the Method to Sea-Water

In order to test the reproducibility of the method, duplicate analyses for inorganic and total phosphorus were carried out on surface water samples collected at five stations in the Irish Sea during July 1955. Before analysis, the samples were filtered through a Whatman No. 1 filter paper and then through a sintered glass filter (porosity 5, average pore size 1.5 μ). The results are shown below (Table VI).

Table VI. Analysis of water samples

Station	Lat. N	Long. W	Cl ‰	Inorganic Phosphorus μg/l			Total Phosphorus μg/l			Difference
				I	II	mean	I	II	mean	
1	54° 03′	4° 48′	18.8	49.6	49.4	49.5	56.5	58.0	57.2	7.7
2	53° 33′	3° 20′	17.5	25.7	26.1	25.9	35.0	35.0	35.0	9.1
3	53° 20′	5° 17′	18.9	50.7	49.0	49.9	64.5	61.5	63.0	13.1
4	53° 54′	3° 31′	18.0	11.5	11.6	11.6	21.5	26.5	24.0	12.4
5	52° 45′	4° 47′	18.9	3.2	3.4	3.3	10.0	9.0	9.5	6.2

Replicate total phosphorus determinations were also carried out on a similarly filtered surface water sample collected at Station 3 during late July 1955 ($Cl‰ = 18.9$, 50.0 μg PO_4^{3-}—P/l). The results (59.0, 60.0, 59.0, 61.0, mean 59.8 μg P/l) show a coefficient of variation of 1.6%.

Application of the Method to Muds

The perchloric acid procedure can be used for the determination of available phosphorus in muds. It was found, however, that a small proportion of the phosphate in mud samples, presumably occurring as resistant minerals, was not attacked by perchloric acid. Thus, a sieved mud sample, dried at 110°, which assayed 0.047% of phosphate-phosphorus by the method of *Baadsgaard* and *Sandell*[37], showed 0.041% of phosphate-phosphorus when opened up by means of perchloric acid. The residue from the perchloric acid digestion, when redigested with a further portion of acid, yielded no further soluble phosphate, but was shown by the method of *Baadsgaard* and *Sandell* to contain 0.004% of phosphate-phosphorus.

When muds containing high proportions of organic matter are analysed, it is advisable to heat them to 500° for a short period to burn off most of the carbon compounds. It has been found that if much carbonaceous matter is present it is not all completely destroyed by two perchloric acid evaporations, and that the partial decomposition products, presumably hydroxy-acids tend to suppress the colour formation in the formation of molybdenum blue.

Replicate analyses carried out on 5 mud samples containing 0.030%, 0.033%, 0.063%, 0.035%, 0.027% of phosphorus showed a coefficient of variation of 2.3%. The method has also been employed for the determination of phosphorus in milligram amounts of biological materials, such as plankton samples, and gave a coefficient of variation of 4.30% with a phosphorus content of 0.398%.

Conclusions

Metol as a reducing agent for phosphomolybdic acid in the determination of phosphate in sea-water presents a number of advantages over stannous chloride. Although it is perhaps less convenient to develop the colour at 100° than at room temperature this is compensated for by the extreme stability of the colour, once developed, which enables large numbers of reductions to be carried out simultaneously. The reagent itself is stable for at least a month and the calibration curve is independent of the use of fresh batches of chemicals. With suitable calibration and little loss of accuracy the time for colour development could be reduced to 30 minutes. The metol reagent gives in sea-water approximately 30% greater sensitivity than stannous chloride if a spectrophotometer is used; with an absorptiometer using barrier layer cells which are not normally sensitive at 820 mμ the sensitivity is somewhat reduced. Of particular interest are the extremely low salt error (ca. 1.2% at $Cl^0/_{00}$ 19) and the complete absence of interference from arsenite, copper and iron at the levels at which they occur in sea-water.

The use of a mixture of perchloric and nitric acids for the determination of total phosphorus in sea-water gives complete recoveries of phosphorus from typical organic phosphorus compounds. The conditions employed are considerably more drastic than those used by *Robinson* who only raised the sample to fuming with perchloric acid. We have found that the addition of nitric acid is essential if quantitative recoveries are to be obtained. About 30 sea-water samples can be analysed for total phosphorus per day with a coefficient of variation of ca. 2% with 60 μg P/l. The same method has been applied to the determination of total phosphorus in marine muds.

Acknowledgment

The authors wish to thank Dr. *T. Malkin* for a gift of organic phosphorus compounds. One of us (J. D. B.) is indebted to the Development Commission of the Ministry of Agriculture and Fisheries for the award of a Fisheries Training Grant.

Summary

The use of *p*-methylaminophenol sulphate (metol) at 100° for the reduction of phosphomolybdic acid in the determination of phosphate in sea-water has a number of advantages over stannous chloride. The molybdenum blue colour once formed, is stable for several hours, and the calibration curve is not dependent upon the batches of reagent used; *Beer*'s law is obeyed up to concentrations of at least 1 mg PO_4—P/l. The salt error is very small and the method has approximately 30% greater sensitivity in sea-water than has the stannous chloride method. Arsenic does not interfere at concentrations five times greater than its sea-water concentration. Iron and copper in moderate amounts do not interfere.

Evaporation to dryness with a mixture of concentrated nitric and perchloric acids, followed by colorimetric determination of inorganic phosphate, is employed for the determination of total phosphorus in sea-water and marine muds. The method shows a coefficient of variation of ca. 2% with sea-water containing 60 μg P/l.

Zusammenfassung

Die Anwendung von p-Methylaminophenolsulfat (Metol) bei 100° für die Reduktion von Phosphomolybdänsäure bei der Bestimmung der Phosphate in Meerwasser hat gegenüber Zinn(II)chlorid eine Reihe von Vorteilen. Das einmal gebildete Molybdänblau ist für einige Stunden stabil und die Eichkurve nicht von der angewendeten Menge Reagens abhängig; das *Beer*sche Gesetz ist für Konzentrationen bis zu 1 mg Phosphat-Phosphor/l gültig. Der Salzfehler ist sehr klein und die Methode für Meerwasser etwa um 30% empfindlicher als die Zinn(II)chloridmethode. Arsen stört bei Konzentrationen, die fünfmal größer sind als in Meerwasser, nicht. Eisen und Kupfer in mäßigen Mengen stören gleichfalls nicht.

Für die Bestimmung des Gesamtphosphors in Meerwasser und Seeschlamm wird mit einer Mischung von konz. Salpetersäure und Perchlorsäure zur Trockne verdampft und das anorganische Phosphat kolorimetrisch gemessen. Die Methode zeigt eine Schwankungsbreite von etwa 2% für Meerwasser mit 60 μg P/l.

Résumé

L'emploi du sulfate de p-méthylaminophenol (métol) à 100° pour la réduction de l'acide phosphomolybdique lors du dosage des phosphates contenus dans l'eau de mer présente de multiples avantages sur celui du

chlorure stanneux. Après sa formation, le bleu de molybdène reste stable pendant plusieurs heures et la courbe d'étalonnage ne varie pas avec le lot de réactif employé; la loi de *Beer* est applicable jusqu'à des concentrations au moins égales à 1 mg de phosphore phosphorique par litre. L'erreur de sel est très faible et la sensibilité de la méthode appliquée à l'eau de mer est environ 30% plus élevée que la méthode au chlorure stanneux. L'arsenic ne gêne pas même pour des concentrations cinq fois supérieures à celle qu'il atteint dans l'eau de mer. Des teneurs modérées de fer et de cuivre n'apportent pas de perturbation. On évapore à siccité en présence d'un mélange d'acides nitrique et perchlorique concentrés puis on effectue une détermination colorimétrique des phosphates minéraux pour doser le phosphore total de l'eau de mer et des boues marines. La méthode est sujette à des variations d'environ 2% pour leau de mer contenant 60 μg de phosphore par litre.

Literature

[1] *H. W. Harvey*, Recent Advances in the Chemistry and Biology of Sea Water, 2nd Ed. New York: Macmillan Co. 1945. p. 32.

[2] *E. Raben*, Wiss. Meeresuntersuch. **18**, 1 (1916—20).

[3] *D. J. Matthews*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **11**, 122 (1916); **12**, 251 (1917).

[4] *W. R. G. Atkins*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **13**, 119 (1923).

[5] *M. G. Denigès*, C. r. acad. sci., Paris **171**, 802 (1920).

[6] *H. Wattenberg*, Rapp. proc. verb. **103**, 11 (1937).

[7] *K. Stoll*, Z. analyt. Chem. **112**, 81 (1938).

[8] *K. Buch* and *M. Ursin*, Merentutkimuslait. Julk., No. 140 (1948).

[9] *R. J. Robinson* and *T. G. Thompson*, J. Mar. Res. **7**, 33 (1948).

[10] *W. S. Wooster* and *N. W. Rakestraw*, J. Mar. Res. **10**, 91 (1951).

[11] *L. H. N. Cooper*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **23**, 171 (1938).

[12] *F. A. J. Armstrong*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **28**, 701 (1949).

[13] *H. W. Harvey*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **27**, 337 (1948).

[14] *C. M. Proctor* and *D. W. Hood*, J. Mar. Res. **13**, 122 (1954).

[15] *H. Levine*, *J. J. Rowe* and *F. S. Grimaldi*, Science **119**, 327 (1954).

[16] *L. J. Greenfield* and *F. A. Kalber*, Bull. Mar. Sci. Gulf and Caribbean **4**, 323 (1954).

[17] *A. C. Redfield*, *H. P. Smith* and *B. H. Ketchum*, Biol. Bull. **73**, 421 (1937).

[18] *L. H. N. Cooper*, Assoc. oceanogr. phys. procès-verbaux **1952**, 199.

[19] *E. Kreps* and *M. Osachih*, Intern. Rev. ges. Hydrobiol. Hydrog. **29**, 221 (1933).

[20] *K. Kalle*, Ber. dtsch. Komm. Meeresforsch. **6**, 273 (1933).

[21] *K. Kalle*, Ann. Hydrogr. maritim. Meteorol. **63**, 195 (1935).

[22] *F. Berger*, Intern. Rev. ges. Hydrobiol. Hydrog. **37**, 420 (1938).

[23] *R. J. Robinson* and *G. Kemmerer*, Trans. Wisconsin Acad. Sci. **25**, 117 (1930).

[24] *L. H. N. Cooper*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **19**, 755 (1934).

[25] *L. Titus* and *L. W. Meloche*, Trans. Wisconsin Acad. Sci. **26**, 441 (1931).

[26] *L. H. N. Cooper*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **21**, 673 (1937).

[27] *R. J. Robinson*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **13**, 465 (1941).

[28] *D. J. Rochford*, Australian J. Marine and Freshwater Res. **2**, 1 (1951).

[29] *A. L. Hansen* and *R. J. Robinson*, J. Mar. Res. **12**, 31 (1953).

[30] *Y. Matida*, Bull. Japan Soc. Sci. Fisheries **18**, 175 (1952).

[31] *D. M. Pratt*, J. Mar. Res. **9**, 29 (1950).
[32] *B. H. Ketchum, N. Corwin* and *D. T. Keen*, Deep Sea Res. **2**, 172 (1955).
[33] *H. Levine, J. J. Rowe* and *F. S. Grimaldi*, Analyt. Chemistry **27**, 258 (1955).
[34] *D. R. H. Gourley*, Nature **169**, 192 (1952).
[35] *L. J. Hardin* and *W. H. MacIntire*, J. Assoc. Off. Agric. Chem. **31**, 400 (1948).
[36] *H. B. Moore*, J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom **28**, 371 (1949).
[37] *H. Baadsgaard* and *E. B. Sandell*, Analyt. Chim. Acta **11**, 183 (1954).
[38] *J. D. Burton* and *J. P. Riley*, Analyst **80**, 391 (1955).
[39] *A. J. Claves*, Discovery Repts. **19**, 96 (1938).
[40] *J. B. Mullin* and *J. P. Riley*, Analyt. Chim. Acta **12**, 162 (1955).
[41] *A. A. Smales* and *B. D. Pate*, Analyt. Chemistry **24**, 717 (1952); Analyst **77**, 188 (1952).
[42] *M. Ishibashi, T. Shigematsu, Y. Nakagawa* and *Y. Ishibashi*, Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ. **24**, 68 (1951).
[43] *I. Noddack* and *W. Noddack*, Arkiv Zoologi **32**, 1 (1940).
[44] *D. R. Davies* and *W. C. Davies*, J. Chem. Soc. London **1931**, 1207.

Services Electronics Research Laboratory Extension, Admiralty, Harlow, Essex, England

Separation and Identification of Molybdenum and Tungsten

By

L. C. F. Blackman

(Received January 16, 1956)

Introduction

Although several hundred methods for the analytical determination of molybdenum and tungsten have been reported in the literature, there has been very little success in the separation and identification of micro-amounts of the metals, especially when one metal is present with a large excess of the other.

The detection of traces of molybdenum in tungsten ores and in technical materials[1] by the very sensitive and specific colour reaction with potassium ethyl xanthate is well known, but no satisfactory method of detection of tungsten in the presence of molybdenum is available. Thus the method of *Tananaeff* and *Pantschenko*[2] has been found by the writer to be most unsatisfactory for even semi-micro amounts, and no better method has been reported.

In the absence of a really specific spot test for tungsten, an attempt was made to effect a quantitative separation of the metal anions. With the use of the new "ring-oven" technique, described last year by *H. Weisz*[3,4], a very simple and sensitive separation of the anions has been achieved.

Method

The basis of the method is to place a drop of solution containing both tungsten and molybdenum at the centre of a small filter paper, and to fix the tungsten as a precipitate within the pores of the paper. The molybdenum can then be washed free from the tungsten and concentrated in the outer ring zone. It is known that the equilibrium conditions which govern reactions in solution differ from those for the same reaction on paper, and for this reason an investigation was made of reagents which give a reasonable precipitation of tungsten in solution, without the co-precipitation of molybdenum.

It was found that aqueous 30% quinine hydrochloride solution was a perfect reagent for fixing tungsten without the co-fixing of any molybdenum. A drop of pure sodium tungstate solution, when placed at the centre of a small filter paper and treated with the quinine reagent, could be washed with 0.1 *N* hydrochloride acid without any detectable removal of tungsten to the outer zone. With a similarly treated drop of pure ammonium molybdate solution, all the molybdenum was washed to the outer zone.

For the success of the method it is not necessary for all the tungsten to be fixed at the centre. It is, however, necessary that all the molybdenum is washed by the acid to the outer zone, where it may be identified by a specific colour reagent. The tungstate ions remaining at the centre may then be identified by rhodamine B reagent.

The method was checked for varying amounts of tungsten and molybdenum, both singly and together, in the range tungsten 1.0–100 μg and molybdenum 1.0–5 μg. The separation and identification of those mixtures in which one of the metals was in great excess, was successful.

Experimental

Separation and identification of tungsten and molybdenum in a mixture of sodium tungstate and ammonium molybdate

A drop of aqueous solution containing 1.5 μg of both tungsten and molybdenum is placed at the centre of a Whatman No. 40, 5.5-cm filter paper, and is carefully ringed with a 30% aqueous solution of quinine hydrochloride. The whole spot is then treated with the reagent. The paper is placed on the ring oven and is washed out with 0.1 *N* hydrochloric acid. After drying the paper over a hot-air blower the centre portion (1 cm diameter), which contains the tungsten precipitate, is punched out. The molybdenum in the ring zone is identified by spraying with a fresh solution of potassium thiocyanate (10%) and stannous chloride (5%) in 3 *N* hydrochloric acid[5], when a brick red ring of molybdenum (III) thiocyanate complex is formed. The punched out centre of the paper is placed at the centre of a second filter paper and is washed out with 0.1 *N* ammonia solution. The paper is developed by immersion in a 0.1% solution of rhodamine B in 6 *N* hydrochloric acid, and then washed carefully under running water. A violet ring of the tungsten complex is formed.

Notes

1. It is anticipated that other reagents could be used to fix the tungsten, e. g. cinchonine, diphenyline[6], 4-amino-1-(4-aminophenyl) naphthalene[7]. It would probably be necessary to modify the initial elutant.

2. Potassium ethyl xanthate is not used to identify the molybdenum since it produces an intense yellow coloration with the excess of quinine that is inevitably present with the molybdenum in the outer zone. This tends to mask the violet colour of the molybdenum complex.

3. The punched-out disc containing the tungsten may be treated directly with the rhodamine B reagent, but it is considered to be more elegant to produce a second ring. Also a small sector of the ring may be treated with potassium ethyl xanthate solution to confirm that the separation is complete.

4. In combination with an electrographic method of obtaining the metal ions at the centre of the filter paper, a very simple method is available for detecting the presence of tungsten and molybdenum in alloys. Preliminary experiments have shown that the presence of a large excess of iron does not interfere. 0.1 *N* sodium hydroxide solution is used as the electrolyte for the transference of the ions to the paper. A potential of 3 volts is used.

Acknowledgement

Acknowledgement is made to the Admiralty for permission to publish this paper.

Summary

A simple and rapid ring-oven method for the separation and identification of molybdenum and tungsten is described. The method may be used for a drop of solution containing varying amounts of the metals within the range, molybdenum 1.0–5.0 μg and tungsten 1.0–100 μg. In combination with an electrographic method of obtaining the metal ions, a direct method is available for detecting the presence of the metals in alloys.

Zusammenfassung

Für die Trennung und den Nachweis von Molybdän und Wolfram wurde eine einfache und rasche Ringofenmethode beschrieben. Diese läßt sich für einen Tropfen einer Lösung anwenden, der 1,0 bis 5,0 μg Molybdän und 1,0 bis 100 μg Wolfram enthält. In Verbindung mit einer elektrographischen Methode ist hiermit die Möglichkeit eines direkten Nachweises dieser Metalle in Legierungen gegeben.

Résumé

Description d'une méthode simple et rapide de séparation et d'identification du molybdène et du tungstène par emploi du four annulaire. La méthode peut être appliquée à une goutte de solution contenant ces métaux à des teneurs variables: de 1,0 à 5,0 μg de molybdène et de 1,0 à 100 μg de tungstène. Combinée avec une méthode électrographique d'obtention des ions métalliques, on dispose d'une méthode directe permettant de déceler la présence des métaux dans les alliages.

References

[1] *K. Agte, H. Becker-Rose* and *G. Heyne*, Z. angew. Chem. **38**, 1124 (1925).
[2] *N. A. Tananaeff* and *G. A. Pantschenko*, Chem. Abstr. **24**, 567 (1930).
[3] *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 140, 376, 460, 785.
[4] *H. Weisz*, Chemical Age **71**, 1039 (1955).
[5] *C. D. Braun*, Z. analyt. Chem. **2**, 36 (1863); *Y. Uzumasa* and *K. Doi*, Chem. Abstr. **34**, 959 (1940).
[6] *F. Feigl*, Rec. trav. chim. Pays-Bas **58**, 471 (1939).
[7] *R. Belcher* and *A. J. Nutten*, J. Chem. Soc. London **1951**, 1516.

Aus dem Mikroanalytischen Laboratorium der pharmazeutischen Abteilung der Sandoz A. G., Basel, Schweiz, und der Fa. Paul Haack, Wien

Ein bewährtes Destillationsgerät für die mikroanalytische Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl

Von

W. Schöniger und **A. Haack**

Mit 1 Abbildung

(Eingelangt am 18. Januar 1956)

Für die mikroanalytische Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* ist eine sehr große Zahl von Destillationsgeräten beschrieben worden, so daß demjenigen, der sich mit der Einführung dieser Methode in seinem Laboratorium beschäftigt, die Wahl schwer fällt. Im folgenden soll ein Destillationsgerät* beschrieben werden, das bei einfachster Ausführung viele Vorteile anderer Apparate in sich vereinigt und das sich bereits in jahrelangem Gebrauch bewährt hat. Auf den Aufschluß der zu analysierenden Substanz soll hier nicht näher eingegangen werden, da darüber erst in letzter Zeit zusammenfassend berichtet wurde[1,2].

Das in Abb. 1 gezeigte Destillationsgerät hat gegenüber anderen Modellen den Vorteil, daß es aus einem Stück gefertigt, sehr robust gebaut und einfach zu bedienen ist. Es besteht aus einem Dampfentwickler und dem Destillationsgefäß mit Kühler. Der Dampfentwickler ist ein 1-l-Rundkolben, der mittels einer Gasflamme oder einer Heizhaube geheizt werden kann. Bei elektrischer Heizung ist ein vorgeschalteter Regelwiderstand bzw. ein Reguliertransformator vorteilhaft — damit kann die Stromstärke und somit auch die Dampfentwicklung geregelt werden —, aber nicht unbedingt erforderlich. Dieser Kolben ist über einen Glashahn mit kurzen Gummischläuchen mit dem Destilliergefäß verbunden. Dieses ist von einem Mantelgefäß umgeben, in das der Dampf durch einen seitlichen Ansatz einströmt und das Destillationsgut vorwärmt. Dadurch wird eine allzu große Volumvermehrung durch kondensierenden Wasserdampf vermieden. Das Mantelrohr ist unten

* Bezugsquelle: P. Haack, Wien IX, Garnisongasse 3.

mit einem zweiten Ansatzrohr versehen, auf das ein Gummischlauch mit Quetschhahn aufgeschoben ist. Oben ist dem Destillationsgefäß ein Trichter mit Hahn zum Einbringen des Destillationsgutes aufgesetzt, das Ablaufrohr des Trichters ist gleichzeitig als Dampfeinleitungsrohr ausgebildet. Über einen Tropfenfänger ist die Verbindung zu einem Schlangenkühler hergestellt.

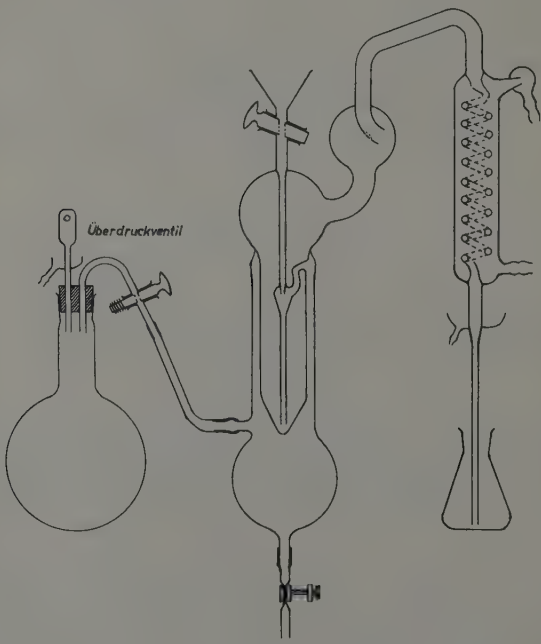


Abb. 1

Der Apparat wird folgendermaßen bedient: Zunächst heizt man den Dampfentwicklungskolben an und dämpft vor Beginn einer Analysenserie den Apparat mindestens $^1/_2$ Stunde lang aus. Dann wird der Hahn geschlossen, so daß der Dampf nach außen hin durch das Überdruckventil entweicht. Das im Heizmantel gesammelte Kondenswasser wird durch Öffnen des Quetschhahnes entfernt und dieser offen gelassen. Man öffnet den Hahn am Trichter und spült das Destillationsgut in der üblichen Weise quantitativ in das Destillationsgefäß, wobei darauf zu achten ist, daß möglichst wenig Wasser verwendet wird. Jetzt wird ein

ausgedämpftes Erlenmeyerkölbchen, in dem sich die vorgelegte Normalsalzsäure befindet, so unter den Kühler gestellt, daß dessen Ablaufrohr gerade noch in die Flüssigkeit eintaucht. Man versetzt anschließend das Destillationsgut mit der entsprechenden Menge Lauge, spült mit ganz wenig Wasser nach und schließt den Trichterhahn. Der Dampfentwickler wird jetzt durch Öffnen des Glashahnes mit dem Destillationsgefäß verbunden und der Quetschhahn am Heizmantelablauf geschlossen. Der in den Heizmantel einströmende Wasserdampf erwärmt zunächst das Destillationsgut, nach kürzester Zeit beginnt die Destillation, die normalerweise bei einer Mikrostickstoffbestimmung nach 4 bis 5 Minuten beendet ist. Nun stellt man das Vorlagekölbchen tiefer und destilliert noch 30 Sekunden weiter, um den Kühlerablauf innen auszuspülen. Nachdem man auch dessen Außenseite mit wenig Wasser abgespritzt hat, wird die Vorlage entfernt. Der Dampfstrom wird anschließend sofort durch Schließen des Glashahnes unterbrochen. Der noch im Heizmantel befindliche Wasserdampf erzeugt durch seine Kondensation einen Unterdruck, der genügt, um das Destillationsgut in den Dampfmantel abzusaugen. Man öffnet jetzt den Trichterhahn, spritzt etwas Wasser in das Destillationsgefäß, schließt den Hahn und wartet, bis das Wasser abgesaugt wird. Dieses Auswaschen wird noch zweimal wiederholt. Das Gerät ist dann für die nächste Destillation bereit.

Dieser Apparat kann außer für die mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes nach *Kjeldahl* (Reststickstoffbestimmung im Serum), bei allen anderen Bestimmungen verwendet werden, bei denen mittels einer Wasserdampfdestillation ein Reaktionsprodukt quantitativ erfaßt werden soll[3]. Es ist ferner möglich, das Destillationsgut nach beendeter Destillation für eine eventuelle Weiterverarbeitung aufzufangen, wodurch der Apparat auch für präparatives Arbeiten verwendbar ist.

Der eine von uns *(W. S.)* möchte auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. *A. Stoll* danken, daß er die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

Zusammenfassung

Es wird eine bewährte Form eines Destillationsapparates für die mikroanalytische Bestimmung des Stickstoffes nach *Kjeldahl* beschrieben, die sich durch einfachen Bau und bequeme Handhabung auszeichnet. Das Gerät kann außerdem überall dort verwendet werden, wo Reaktionsprodukte durch eine Wasserdampfdestillation in einem kleinen Destillationsvolumen gesammelt werden sollen.

Summary

A description is given of a tested form of a distillation apparatus for the microanalytical determination of nitrogen by the *Kjeldahl* method. It

is characterized by its simple design and ease of manipulation. The apparatus can be used wherever reaction products are to be collected in a small volume of distillate by steam distillation.

Résumé

Description d'une forme éprouvée d'un appareil de distillation pour le dosage microanalytique de l'azote par la méthode de *Kjeldahl* et caractérisée par sa simplicité de construction et sa manipulation aisée. L'appareil peut en outre être utilisé chaque fois que l'on doit condenser dans un faible volume un produit de réaction entraînable à la vapeur.

Literatur

[1] *Houben-Weyl*, Methoden der organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. II. Stuttgart: G. Thieme. 1953, S. 191.

[2] *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl., Bd. III/1. Heidelberg: Springer-Verlag. 1955. S. 239.

[3] Z. B.: *W. Schöniger*, *H. Lieb* und *M. G. El Din Ibrahim*, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 96.

Department of Chemistry and Metallurgy, The Technical College, Coventry, England

Apparatus for the Determination of Melting Points and Boiling Points

By

W. S. Owen and **W. M. Reid**

With 1 Figure

(Received January 30, 1956)

This apparatus has been developed to avoid the use of liquids such as glycerol or sulphuric acid; in our experience it has also advantages over electrically heated blocks.

Typical results are given below:

Melting Points °C

	Found	Required*		Found	Required*
Guaiacol	28	28	*p*-Aminobenzoic acid	186	186
p-Chloroaniline	70	70	Phthalimide	233	234
Benzoic acid	121	121.7	*p*-Nitrobenzoic acid	241	241
Anthranilic acid	144	145			

Similar accuracy for melting points of unknowns between 28° C and 300° C has been obtained by students using the apparatus.

Boiling Points °C

	Found	Required*		Found	Required*
Ethyl bromide	38	38	Methyl benzoate	199	199.6
Carbon Tetrachloride	78	78	Ethyl succinate	218	217.7
Water	100	100	Ethyl cinnamate	271	271
Anisole	154	153.8	Benzyl phenyl-acetate**	319	317–9
Phenetole	172	172			

* *N. D. Cheronis* and *J. B. Entrikin*, Semi-micro Qualitative Organic Analysis. London: Constable & Co. 1947.

** *I. Heilbron* and *H. M. Bunbury*, Dictionary of Organic Compounds. Eyre & Spottiswoode Ltd. 1946.

Liquid Mixtures

Components	Lower B. Pt. °C	Required	Higher B. Pt. °C	Required
Carbon Tetrachloride/aniline	78	78	184	183
Benzene/anisole	80	80	154	154
Benzene/toluene	80	80	111–113	111
Toluene/chlorobenzene	111	111	131–133	132

Apparatus

Fig. 1 shows the general arrangement of the apparatus. The heating block is of aluminium and is 5 cm by 5 cm diameter. A hole 1-cm diameter

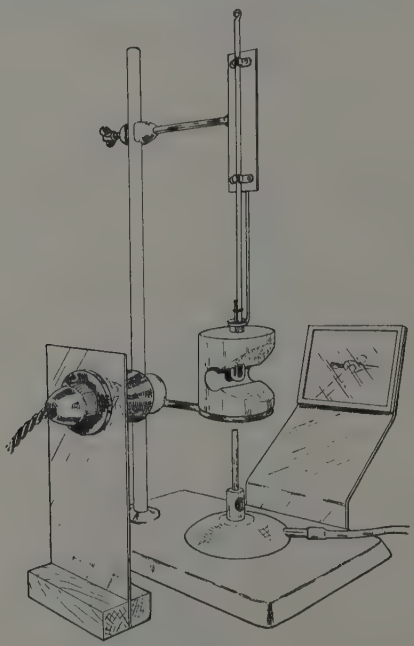


Fig. 1

is drilled down the centre to a depth of 3.75 cm and a further hole 1.25-cm diameter is drilled horizontally through the block. 3 cm from the top of the block. The block is supported on a ring support attached to a retort stand,

An ignition tube 0.9 cm diameter is placed in the central socket. This does not touch the bottom of the socket, but is supported above it by a copper wire attached to the thermometer support which is held in place by an upper clamp. The thermometer support is a brass strip 10 cm × 3 cm × 0.3 cm with two spring clips attached to hold the thermometer. The copper wire support is soldered to the back of this brass strip. The complete thermometer-ignition tube assembly can be raised free of the block and the latter is easily cooled, after a high temperature determination, by placing it in water. The plane mirror, inclined as shown, enables the capillary to be seen by an observer seated at the bench. It is supported by a piece of tin plate attached to the base of the retort stand as shown, or a frame of tin plate can be soldered to a brass right-angle rod and welded to the ring support carrying the block.

A 15-watt lamp is placed 5–10 cm from the block immediately in front of the operator for m. pt. determinations. It is not required for b. pt. determinations. The lamp is placed in a skirted batten-type lamp holder and enclosed by a diffusing hood attached to the skirt of the lamp holder by a rubber band. The lamp holder is fixed to a wooden frame, height 20 cm.

Procedure

(a) *Melting Points*

A few crystals are placed on top of the block and the block is heated with a micro burner until the crystals melt. The burner is then removed, the 15-watt lamp is switched on, and the burner flame adjusted to give a rise of 2–3° C per minute. The m. pt. capillary is clearly seen in the mirror. (*Note*. The temperature of the block itself is always a few degrees higher than the sample in the m. pt. capillary.)

(b) *Boiling Points*

Three to seven drops (0.25–0.5 ml) of liquid are placed in an ignition tube, the thermometer bulb placed in the liquid or the vapour and an inverted m. pt. capillary placed in the liquid. The block can be heated rapidly (10° C–20° C per minute), a rapid stream of bubbles is seen at the boiling point (*Siwoloboff* method), but the boiling point is taken when the temperature remains constant (at least 30 secs) before all the liquid is distilled. A jacketed distillation effect is obtained.

(c) *Liquid mixtures*

Initially the thermometer is suspended in the vapour with an inverted capillary in the liquid. At the boiling point of the lower boiling liquid, the stream of bubbles is seen and the temperature is constant (or rises very slowly through 2° C if the difference in boiling points is 30° C or less). When all the first component is vaporised, the capillary tube

fills with liquid and a new capillary is placed in the liquid and the thermometer bulb lowered into the liquid. The boiling point of the second component is recorded when the last drop of liquid is vaporised.

The authors express their thanks to *R. Massingham* for the drawing of the apparatus and to the Coventry Further Education Sub-Committee and the Principal of Coventry Technical College for the provision of facilities for this work.

Summary

A simple apparatus is described for the determination of melting and boiling points of organic substances. It has several advantages over the conventional method using a liquid bath or methods which use an electrically heated block.

Zusammenfassung

Ein einfacher Apparat für die Bestimmung von Schmelz- und Siedepunkten organischer Substanzen wird beschrieben. Er hat gegenüber üblichen Methoden unter Verwendung von Badflüssigkeiten oder solchen mit einem elektrischen Heizblock einige Vorteile.

Résumé

Description d'un appareil simple pour la détermination des points de fusion et d'ébullition des substances organiques. Son emploi présente divers avantages sur la méthode habituelle qui comporte l'utilisation d'un bain liquide ainsi que sur les méthodes qui comportent l'utilisation d'un bloc chauffé électriquement.

Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Ljubljana, Jugoslawien

Beitrag zur papierchromatographischen Bestimmung der Mutterkornalkaloide

Von

J. Kolšek

Mit 2 Abbildungen

(Eingelangt am 6. Februar 1956)

Die Mutterkornalkaloide nehmen wegen ihrer therapeutischen Wirkung unter den Heilmitteln einen bedeutenden Platz ein. Dank ihrem Vermögen, Uteruskontraktionen hervorzurufen, finden sie auf dem Gebiet der Gynäkologie Verwendung, anderseits haben sich Präparate der Mutterkornalkaloide auch bei der Behandlung neurovegetativer Störungen bewährt. Da die therapeutische Wirkung vor allem den linksdrehenden Isomeren zuzuschreiben und auch bei diesen sehr verschieden ist[1,2], ergibt sich aus der Notwendigkeit einer genauen Dosierung der Präparate das Bestreben, die wirksamsten Komponenten aus der Droge einzeln zu isolieren und zur Anwendung zu bringen. Liegt ein Präparat in Form eines Gemisches mehrerer Alkaloide vor, so ist erst recht erforderlich, seine Zusammensetzung zu kennen, um sich über seine Wirkung im klaren zu sein. Als analytische Methoden kommen dafür der biologische Test und die papierchromatographische Analyse in Betracht, da die kolorimetrische Methode nur die Gesamtmenge der wasserlöslichen bzw. der wasserunlöslichen Alkaloide annähernd zu bestimmen ermöglicht, wobei die gefundene Alkaloidmenge zahlenmäßig einer Reinkomponente dieses Gemisches entsprechend ausgedrückt wird. Auch der biologische Test liefert, wie aus einem Bericht von *L. Fuchs*[1] besonders deutlich hervorgeht, keine zuverlässigen Werte und wird deshalb auch von anderen Autoren abgelehnt. Die einzige, sowohl für qualitative als auch für annähernd quantitative Bestimmungen der Mutterkornalkaloide in Betracht kommende analytische Methode ist die Chromatographie, da diese nicht nur eine Auftrennung einzelner Alkaloide voneinander, sondern auch der wirksamen linksdrehenden Isomeren von den wenig wirksamen rechtsdrehenden

Isomeren gestattet. Daher fehlt es auch nicht an Arbeiten, die sich mit der papierchromatographischen Analyse dieser Wirkstoffe befassen. Übersichten über die zu diesem Zweck geeigneten Arbeitsmethoden sind in den Arbeiten von *L. Fuchs*[2], *L. Fuchs* und *M. Pöhm*[7], *M. Pöhm* und *M. Wichtl*[3], *K. Macek*[4], *A. M. Berg*[8], *A. Stoll* und *A. Rüegger*[5], *H. Bräuniger*[9–11] zu finden.

Unsere Versuche hatten zum Ziele, eine möglichst einfache und schnelle Methode zu finden, die eine qualitative und quantitative Bewertung eines durch Extraktion der Droge erhaltenen Rohgemisches der Mutterkornalkaloide ermöglichen würde. Wir lehnten diejenigen Verfahren ab, die auf der Bestimmung der hydrolytisch abspaltbaren Aminosäuren beruhen[12,18–20], und wandten uns einer direkten papierchromatographischen Auftrennung der Alkaloide zu. Dabei haben wir teilweise einige wertvolle Anhaltspunkte aus den Arbeitsmethoden anderer Autoren übernommen und durch eigene Versuche weiterentwickelt.

Die meisten ausgearbeiteten Methoden gestatten die Abtrennung einer oder nur weniger Komponenten aus einem Gemisch der Mutterkornalkaloide bestimmter Zusammensetzung. So haben z. B. *Foster*, *Mac Donald* und *Jones*[12] eine Auftrennung von Ergobasin und Ergobasinin von den wasserunlöslichen Alkaloiden erreicht, *Carless* und *Woodhead*[13] trennten einerseits Ergotamin und Ergotaminin und anderseits Ergocristinin aus dem Ergotoxinkomplex. *Berg*[14] führte die Auftrennung der Ergotoxinkomponenten herbei, *Thielman*, *Lang* und *Kaiser*[15] trennten Ergotamin und die Ergotoxingruppe vom Ergobasin. Mehr Interesse erwecken die Methoden von *A. Stoll* und *A. Rüegger*[5], *Macek*, *Černý*, *Semonský*[16] sowie *Pöhm* und *Fuchs*[17], da sie sich durch einen guten Trennungseffekt auszeichnen. *Stoll* und *Rüegger* verwenden Dimethylphthalat als immobile und ein Formamid—Wasser-Gemisch als mobile Phase. Nach dieser Methode werden sämtliche Mutterkornalkaloide voneinander und von den dazugehörigen Isomeren getrennt. Der günstigste p_H-Bereich ist für die drei Gruppen (Ergobasin-, Ergotamin- und Ergotoxin-Gruppe) ein verschiedener; deshalb setzt dieses Arbeitsverfahren eine vorhergehende Trennung eines Gemisches sämtlicher Mutterkornalkaloide in die oben genannten Gruppen nach einer anderen Methode voraus. *Pöhm* und *Fuchs* imprägnierten das Papier mit Formamid, dem 4% Benzoesäure zugesetzt worden war, und benutzten als mobile Phase eine Mischung aus Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform und Benzol (7 : 2 : 1). Aus einem Gemisch sämtlicher Mutterkornalkaloide werden folgende Alkaloidfraktionen erhalten: 1. Ergobasin + Ergobasinin, 2. Ergotamin, 3. Ergosin, 4. Ergotaminin, 5. Ergosinin, 6. Ergocristin + + Ergocornin, 7. Ergokryptin, 8. Ergocristinin + Ergocorninin, 9. Ergokryptinin. Der Nachteil dieser Methode liegt, wie die Verfasser selbst angeben, darin, daß die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen

Alkaloide in Mischungen von der relativen Menge einzelner Bestandteile beeinflußt wird. Dadurch ergibt sich die Notwendigkeit, unbekannte Alkaloidgemische durch parallel laufende „Leitmischungen" von Reinalkaloiden verschiedener Zusammensetzung zu identifizieren. Solche Mischungen der Reinalkaloide stehen dem Analytiker nicht immer zur Verfügung. Auch das Arbeiten mit einem Elutionsmittel, das aus einer Mischung dreier leichtflüchtiger Lösungsmittel besteht, dürfte gegenüber einem einheitlichen von Nachteil sein, da durch ungleichmäßiges Verdunsten einzelner Komponenten schließlich eine Änderung der R_f-Werte herbeigeführt werden kann.

Die Methode von *Macek*, *Černý* und *Semonský* besitzt gegenüber der oben beschriebenen von *Pöhm* und *Fuchs* ein geringeres Trennungsvermögen, zeichnet sich aber durch Einfachheit aus und liefert, wie Versuche gezeigt haben, stets gut reproduzierbare Resultate. Da wir bestrebt sind, eine quantitative Methode zur Bewertung der Droge und der Rohgemische der Mutterkornalkaloide zu finden, haben wir uns diesem Arbeitsverfahren zugewandt, um durch Versuche diejenigen Arbeitsbedingungen zu bestimmen, die die besten Resultate gewährleisten, und dann die Fehlergrenze bei der Analyse zu ermitteln. In einer Versuchsreihe wurden zuerst die R_f-Werte für die einzelnen Reinalkaloide und ihre p_H-Abhängigkeit bestimmt und dann das Trennungsvermögen dieses Verfahrens für ein Rohgemisch sämtlicher Mutterkornalkaloide festgelegt. Neben den Reinalkaloiden wurde auch ein Belichtungs- bzw. Zersetzungsprodukt von Ergotamin erfaßt.

Eigene Untersuchungen

Die papierchromatographische Trennung der Mutterkornalkaloide wurde nach der absteigenden Methode durchgeführt. Die aufsteigende Methode, die sonst kompaktere Flecke bildet, bot bei unserem Arbeitsverfahren keine Vorteile, vielmehr wurden einerseits niedrigere R_f-Werte erhalten, anderseits war die Länge der Chromatogramme und dadurch der Trennungseffekt durch die Steighöhe des Lösungsmittels beschränkt; außerdem nimmt diese Methode auch mehr Zeit in Anspruch.

Sämtliche Versuche wurden mit dem Papier Schleicher & Schüll 2043 b (dieses entspricht Whatman Nr. 1) durchgeführt. *Macek* und Mitarbeiter benutzten bei ihren Versuchen sehr breite Papierstreifen (teilweise ganze Bögen), die gleichzeitiges Arbeiten mit mehreren Substanzen ermöglichen und mit deren Hilfe die Identifizierung einzelner Komponenten besonders eindrucksvoll gezeigt werden konnte. Für Einzelbestimmungen finden meistens Streifen von etwa 2,5 bis 3 cm Breite Verwendung, worauf sich nach der Entwicklung abgerundete Flecke ausbilden. Bei quantitativen Bestimmungen stellten *Brindle*, *Carless* und *Woodhead*[21] fest, daß die

Ursache der Verluste bei der Bestimmung von Ergotoxin, die bis zu 23% betrugen, zum Teil in der Ausbreitung der Substanz außerhalb der fluoreszierenden Zone zu suchen ist. Hierbei kommt es auch vor, daß die Substanz während des Entwickelns an den Rand geschwemmt wird und dort zur Schwanzbildung neigt. Wir versuchten diesen Unannehmlichkeiten von vornherein aus dem Wege zu gehen, indem wir Papierstreifen von nur 1 cm Breite benutzten. Hier bilden sich die Flecke beim Entwickeln der Chromatogramme in Form gerade begrenzter Bänder aus, ähnlich wie sie bei der Papierelektrophorese erhalten werden. Die R_f-Werte stimmen, wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, mit denjenigen, die in üblicher Arbeitsweise auf breiten Chromatogrammen erhalten werden, völlig überein. Ein weiterer Vorteil dieser Methode, die schon von *Fowler*[22] zur quantitativen Bestimmung der Zucker empfohlen wurde, liegt in einer beträchtlichen Papierersparnis.

Die Reinalkaloide, die in Form ihrer Basen verwendet wurden, stammen von der Sandoz A. G., Basel. Außerdem wurde Ergotamin aus Gynergen (Injektionen) und Ergotoxin aus einem englischen Präparat (Ergotoxinäthansulfonat der Firma Borough Drug House Ltd.) verwendet, nachdem die Basen aus ihren Salzen in Freiheit gesetzt worden waren.

Das Imprägnieren der Papierstreifen mit 50%iger äthanolischer Lösung von Formamid, die die stationäre Phase bildet, geschieht am besten mit Hilfe eines Pinsels. Dadurch wird ein gleichmäßiges Auftragen der Lösung erreicht und es erübrigt sich, den Überschuß an Formamid abzusaugen. Unmittelbar darauf kann man die Lösung der Alkaloide auf die Startlinie bringen und die Streifen zum Entwickeln in die chromatographische Kammer hängen. 50%ige äthanolische Lösung von Formamid hat sich deswegen als günstig erwiesen, weil der Feuchtigkeitsgrad derart imprägnierter Papiere gerade dazu ausreicht, eine genügende Konzentration der immobilen Phase zu gewährleisten; anderseits behält das Papier noch genügendes Saugvermögen für das Elutionsmittel bei und läßt die Grenze der Lösungsmittelfront mit Leichtigkeit erkennen. Die Lösung der Alkaloide wurde mit einer Kapillare auf die Startlinie aufgetragen, und zwar nicht punktförmig, sondern bandförmig längs der Startlinie und gleichmäßig entlang der ganzen Breite des Papierstreifens.

Zum Entwickeln wurde reines Benzol (Riedel de Haën) verwendet. Auch wurden einige Versuche durchgeführt, bei denen Mischungen von Benzol und Chloroform (8 : 2) zur Anwendung gelangten. Als chromatographische Kammern haben sich hohe, nichtgraduierte Meßzylinder als gut brauchbar erwiesen. Das Sättigen mit Lösungsmitteldampf nahm kurze Zeit in Anspruch; wir konnten keine Abhängigkeit der R_f-Werte von der Dauer des Sättigens der Kammern feststellen, wie sie *Macek* und Mitarbeiter erwähnten.

Das Sichtbarmachen der Alkaloide auf Papierchromatogrammen kann auf verschiedene Arten durchgeführt werden. Die nativen Alkaloide können an Hand ihrer intensiven blauvioletten Fluoreszenz im UV-Licht erkannt werden. Weniger als 1 μg Alkaloid soll auf diese Weise noch erfaßbar sein[4,21]. Nach *Macek*[4] soll bei Benutzung formamidbehandelten Papiers die Empfindlichkeit des Nachweises noch größer sein, dagegen berichten *Brindle*, *Carless* und *Woodhead*[21] von einer Verringerung der Empfindlichkeit auf dem mit Pufferlösungen imprägnierten Papier. Außerdem ist die Intensität der Fluoreszenz bei den einzelnen Alkaloiden verschieden[23], so daß nicht immer die gleiche Mindestmenge zum Nachweis im UV-Licht ausreicht.

Als gut brauchbar hat sich die Farbreaktion nach *Van Urk* mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erwiesen, deren Erfassungsgrenze ebenfalls unter 1 μg Alkaloid liegt[5]. Ein Zusatz von Eisen(III)-chlorid zum Reagens soll die Bildung der Farbe beschleunigen, so daß sich zusätzliches Erhitzen oder Belichten des Reaktionsgemisches erübrigt[24]. Die Versuche zeigten dagegen, daß die Farbintensität trotz des Eisenchloridzusatzes zum Reagens beim Belichten zunimmt, besonders mit UV-Licht. Von diesem Effekt wurde bei quantitativen photometrischen Alkaloidbestimmungen durch *Silber* und *Schulze*[25] Gebrauch gemacht; dasselbe Verfahren wendeten *Tuzson* und *Vastagh*[6] zur Aufdeckung der Flecke auf dem Papierchromatogramm an. Auch wir konnten feststellen, daß ein zusätzliches Belichten mit UV-Licht der mit *Van Urk*schem Reagens behandelten Chromatogramme die Empfindlichkeit des Nachweises beträchtlich steigert. 2 bis 3 Minuten zu belichten, genügt vollkommen, um die blauen Flecke auf dem Chromatogramm deutlich zum Vorschein zu bringen.

Versuchsergebnisse

Nach der beschriebenen Methode wurden die R_f-Werte für die reinen Mutterkornalkaloide bestimmt. Sie sind in der Tabelle 1 wiedergegeben. Obwohl bei unserer Arbeit schmale Papierstreifen verwendet wurden, stimmen unsere R_f-Werte mit denen von *Macek* und Mitarbeitern gut überein.

Alle R_f-Bestimmungen wurden in einem temperaturgeregelten Raum bei 20° durchgeführt. Auch wir konnten bei den Versuchen feststellen, daß die Wanderungsgeschwindigkeit der Alkaloide in einem Gemisch durch die nahe verwandten Komponenten etwas beeinflußt wird, wobei die R_f-Werte meist etwas niedriger ausfallen.

Die Wanderungsgeschwindigkeit der Basen ist natürlich im hohen Maße auch von der Acidität der wäßrigen Phase abhängig. An Hand einer Anzahl von Versuchen konnten wir die Abhängigkeit der R_f-Werte vom p_H der immobilen Phase feststellen. Diese Abhängigkeit ist in der

Abb. 1 graphisch dargestellt. Daraus geht hervor, daß die R_f-Werte im p_H-Bereich von 4 bis etwa 6 stark von der Acidität abhängig sind, über $p_H = 6$ erreichen sie dagegen einen annähernd konstanten Betrag. Alle p_H-Werte wurden durch potentiometrische Messung ermittelt. Eine 50%ige äthanolische Lösung von reinem Formamid hat einen p_H-Wert etwas über 6,0. Damit lassen sich auch ziemlich gut reproduzierbare R_f-Werte erhalten.

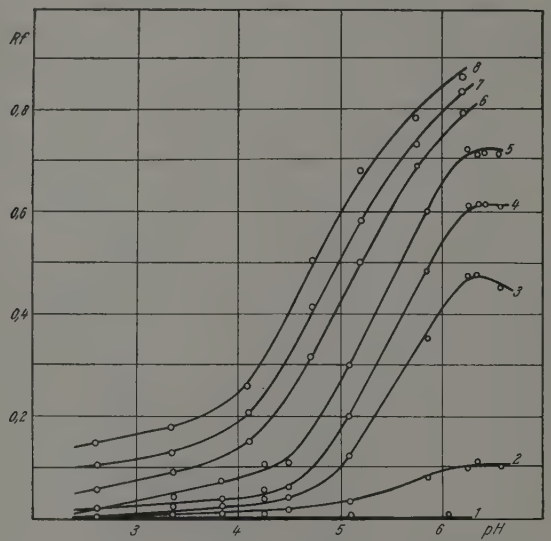


Abb. 1. Abhängigkeit der R_f-Werte vom p_H
1 Lysergsäure, *2* Ergotamin, *3* Ergotaminin, *4* Ergocornin + Ergocristin, *5* Ergokryptin, *6* Ergocorninin, *7* Ergocristinin, *8* Ergokryptinin

Trotz der Tatsache, daß sich die R_f-Werte einzelner Reinalkaloide untereinander um einen geringen Betrag unterscheiden, wird ein Gemisch solcher Komponenten nicht getrennt. Aus der Abbildung des Chromatogrammes von *Macek* ist ersichtlich, daß eine Trennung von Ergotamin und Ergosin auf diesem Wege nicht zu erreichen ist. In gleicher Weise ergaben unsere Versuche, daß Ergocornin und Ergocristin im Gemisch die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit besitzen. Ein Gemisch von Ergocorninin, Ergocristinin und Ergokryptinin bleibt ebenso ungetrennt. Daher versuchten wir, den Trenneffekt der Chromatogramme durch Formgebung der Papierstreifen zu erhöhen. Die 1 cm breiten Streifen

wurden mit einer Zunge von etwa 2,5 mm Breite versehen und das Substanzgemisch einige mm von der Übergangsstelle zum breiten Teil des Papierstreifens aufgetragen. Die Wanderungsgeschwindigkeit der mobilen Phase wurde dadurch ziemlich verringert, der Trenneffekt aber bedeutend erhöht. Die R_f-Werte sind bei dieser Arbeitsweise etwas höher. Sie sind ebenfalls aus der Tabelle ersichtlich.

Tabelle 1

	Chromatogramme mit 1 cm Breite	R_f-Werte nach *Macek* u. Mitarb.	R_f-Werte nach Formgebung
Ergotamin	0,05	0,08	0,12
Ergosin	0,12	0,11	0,15
Ergotaminin	0,35	0,40	0,46
Ergosinin	0,42	—	0,49
Ergocornin	0,45	0,55	0,56
Ergocristin	0,50	0,55	0,59
Ergokryptin	0,61	0,67	0,71
Ergocorninin	0,79	—	0,83
Ergocristinin	0,83	—	0,84
Ergokryptinin	0,86	—	0,87
d-Lysergsäure	0,00	0,00	0,00
iso-Lysergsäure	0,00	0,00	0,00
Lumi-Ergotamin	0,04	—	0,05
Ergobasin	0,00	—	0,00
Ergobasinin	0,00	—	0,00

Der Trenneffekt dieser Methode wurde mit Gemischen verschiedener Reinalkaloide festgestellt. Obwohl die R_f-Werte für Ergotamin und Ergosin bzw. für Ergotaminin und Ergosinin sehr nahe beisammen liegen, so daß diese Substanzen nach der üblichen Arbeitsmethodik nicht aufgetrennt werden können, konnte nach diesem Verfahren eine scharfe Trennung beider Alkaloide und ihrer Stereoisomeren herbeigeführt werden. Das gleiche gilt für Ergosinin und Ergocornin, deren Wanderungsgeschwindigkeiten ebenfalls nahe beisammen liegen.

Die Abhängigkeit der R_f-Werte einzelner Reinalkaloide von der Zusammensetzung des Gemisches soll an einigen Beispielen gezeigt werden. Die R_f-Werte für diese Gemische wurden nach der beschriebenen Methode mit verbessertem Trenneffekt bestimmt und sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß die Wanderungsgeschwindigkeit einer und derselben Komponente um so stärker beeinflußt wird, je größer die Anzahl der Alkaloide in einem Gemisch ist. Besonders un-

angenehm macht sich diese Tatsache bei einem Gemisch von Ergotoxin, Ergosinin und Ergotaminin bemerkbar, weil die Begrenzung der Flecke bei den einzelnen Komponenten unscharf wird, was eine quantitative Auswertung sehr erschwert.

Tabelle 2

Zusammensetzung des Gemisches	Erhaltene Fraktionen und ihre R_f-Werte	
Ergocornin Ergocristin Ergocorninin Ergocristinin	Ergocornin, Ergocristin 0,61	Ergocorninin, Ergocristinin 0,82
Ergotoxin	Ergocornin, Ergocristin 0,59 Ergokryptin 0,67	Ergocorninin, Ergocristinin, Ergokryptinin 0,86
Ergotoxin Ergotaminin	Ergotaminin 0,43 Ergocornin, Ergocristin 0,55	Ergokryptin 0,65 Ergocorninin, Ergocristinin, Ergokryptinin 0,83
Ergotoxin Ergotamin Ergotaminin Ergosin Ergosinin	Ergotamin 0,11 Ergosin 0,13 Ergotaminin 0,40 Ergosinin 0,48	Ergocornine, Ergocristine 0,52 Ergokryptin 0,62 Ergocorninin, Ergocristinin, Ergokryptinin 0,86

Bei den Versuchen, die Abhängigkeit der R_f-Werte vom p_H zu zeigen, konnte festgestellt werden, daß die Auftrennungsmöglichkeit des Ergotoxinkomplexes mit steigender Acidität zunimmt. Schon bei $p_H = 5{,}3$, noch besser dagegen bei $p_H = 4{,}2$ konnte eine deutliche Auftrennung von Ergotoxin in seine drei Komponenten und ebenso ihrer Stereoisomeren untereinander wahrgenommen werden. Ebenso wurde ein Gemisch von Ergocornin und Ergocristin, das bei $p_H = 6$ gemeinsam wandert, in beide Komponenten aufgetrennt. Alle diese Beispiele zeigen deutlich den Vorteil, den die Formgebung der Papierstreifen bei chromatographischer Trennung mit sich bringt.

Macek und Mitarbeiter haben bei ihrer Arbeit auch Gemische von Benzol und Chloroform als Elutionsmittel benutzt und studierten die Abhängigkeit der Wanderungsgeschwindigkeit von der Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches an Ergotamin, Ergotaminin, Dihydroergotamin und Lysergsäure. Die Verfasser geben an, daß sich ein Gemisch von Benzol und Chloroform (8 : 2) auch zum Nachweis von Zersetzungsprodukten in Ergotaminpräparaten eignet, was aus einer Wiedergabe ihres Chromato-

gramms[16] (Abb. 2) auch gut ersichtlich ist. Neben Ergotamin ($R_f = 0{,}20$) und Ergotaminin ($R_f = 0{,}62$) treten noch zwei weitere Flecke mit R_f-Werten von 0,52 und 0,83 auf. Wir haben verschiedene Ergotaminpräparate und alte Ergotaminlösungen einer Untersuchung nach dieser Methode unterworfen, konnten jedoch diese Bestandteile unter den Zersetzungsprodukten nicht finden. Wir gingen daran, eine Zersetzung des Ergotamins und Ergotaminins durch künstliche Belichtung herbeizuführen, wie sie von

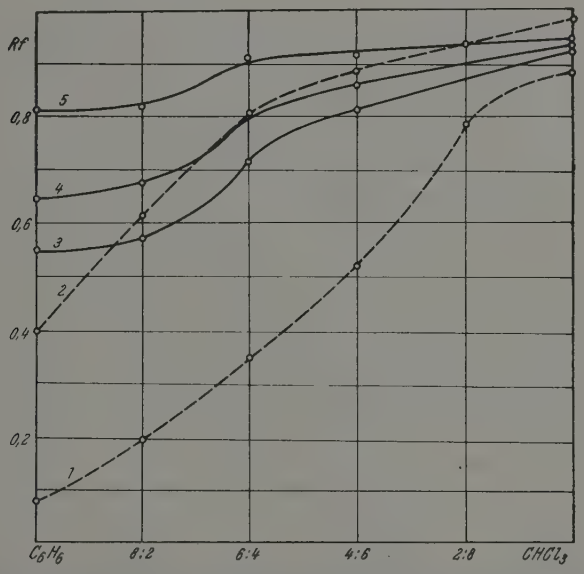


Abb. 2. Abhängigkeit der R_f-Werte von der Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches
1 Ergotamin, *2* Ergotaminin, *3* Ergocornin + Ergocristin, *4* Ergokryptin, *6*. Ergocorninin + Ergocristinin + Ergokryptinin

A. Stoll und *W. Schlientz* in der Arbeit über Belichtungsprodukte von Mutterkornalkaloiden[26] beschrieben ist. Wurde eine Ergotamintartratlösung dem UV-Licht ausgesetzt, so trat schon nach kurzer Zeit Zersetzung ein; chromatographisch wurde Lysergsäure in beträchtlicher Menge nachgewiesen. Nach mehrstündigem Belichten einer Ergotamintartratlösung mit einer gewöhnlichen 60-W-Glühbirne konnte neben Ergotamin, Ergotaminin und einer kleinen Menge von Lysergsäure ein weiteres Zersetzungsprodukt mit dem R_f-Wert 0,04 festgestellt werden. Dasselbe Produkt wurde auch bei der Analyse alter Chloroformlösungen von Ergotamin nachgewiesen und ist mit der Bezeichnung Lumiergotamin

in der Tabelle der R_f-Werte eingetragen. Zwei verschiedene Belichtungsprodukte, wie sie von *Stoll* aufgeführt werden, konnten auf diese Weise nicht erhalten werden.

Nach derselben Methode (Benzol-Chloroform 8 : 2) haben wir für Ergotoxin folgende R_f-Werte gefunden:

Ergocornin, Ergocristin	0,57	Ergokryptin 0,68	Ergocorninin, Ergocristinin, Ergokryptinin 0,84

Die Ähnlichkeit der R_f-Werte dieser von *Macek* als Zersetzungsprodukte angesehenen Substanzen mit den R_f-Werten einzelner Fraktionen aus dem Ergotoxinkomplex läßt darauf schließen, daß das von *Macek* untersuchte Ergotamin mit Spuren von Ergotoxin verunreinigt war. Um das mit voller Sicherheit nachzuweisen, wurden in einigen Versuchen noch die R_f-Werte für Ergotoxin mit Benzol-Chloroform-Gemischen verschiedener Zusammensetzung bestimmt. In Abb. 2 sind neben den so erhaltenen R_f-Werten für Ergocristin, Ergocornin, Ergokryptin und ihre drei Stereoisomeren noch die von *Macek* aufgestellten Kurven für Ergotamin und Ergotaminin eingetragen. Aus der Abbildung geht hervor, daß sich im Bereich ab etwa 20% Chloroform aufwärts die Kurven für Ergotaminin und Ergokryptin einander sehr nähern, sich später decken und schließlich überschneiden. Deshalb ist anzunehmen, daß in einem Gemisch von Ergotaminin und Ergotoxin mit einem Benzol-Chloroform-Gemisch (8 : 2) als Elutionsmittel Ergotaminin und Ergokryptin wegen der geringen Wanderungsgeschwindigkeitsdifferenz gemeinsam wandern, was in einem Versuch, bei dem nur Ergotaminin und Ergokryptin gemeinsam aufgetragen wurden, deutlich bewiesen werden konnte.

Experimenteller Teil

Das Ende der 1 cm breiten Papierstreifen (Schleicher & Schüll 2043 b) wird zu einer Zunge von etwa 5 cm Länge und 2,5 mm Breite zugeschnitten. Man imprägniert mit äthanolischer Formamidlösung (Formamid-Äthanol 1 : 1 *v/v*) am besten durch Bestreichen der Streifen mit einem Pinsel. Die auf diese Weise aufgetragene Flüssigkeitsmenge ist so gering, daß gleich darauf, ohne vorhergehendes Trocknen der Papierstreifen oder Absaugen des Flüssigkeitsüberschusses, die Substanz aufgetragen werden kann.

Die Basen werden in Chloroform oder Äther gelöst und mit Hilfe einer Kapillare auf die Startlinie aufgetragen, und zwar nicht punktförmig, sondern bandförmig und gleichmäßig über die ganze Breite der Zunge bzw. des Papierstreifens. Wegen ihrer leichten Flüchtigkeit sind die Lösungen in Äther und Chloroform besonders geeignet, da die Alkaloide in nächster Nähe der Startlinie begrenzt bleiben.

Als mobile Phase verwendeten wir gereinigtes Benzol (Riedel de Haën), reines Chloroform und Gemische beider Lösungsmittel, die vorher mit Formamid gesättigt wurden.

Als chromatographische Kammern dienten ungraduierte Meßzylinder von 75 cm Höhe und etwa 6 cm Durchmesser. Die zur Entwicklung der Chromatogramme benötigte Zeit beträgt für 1 cm breite Streifen etwa 4 Stunden, für zungenförmig zugeschnittene bis 9 Stunden. Die Lösungsmittelfront kann im durchfallenden Licht gut erkannt werden und muß nach Herausnahme der Chromatogramme aus der Kammer sofort markiert werden, bevor sich das Lösungsmittel verflüchtigt. Die Raumtemperatur wurde durch eine Klimaanlage bei 20° konstant gehalten.

Der Nachweis der Alkaloide auf dem Papier kann ohne vorhergehendes Trocknen der Chromatogramme kurz nach der Entnahme aus der Kammer erfolgen. Die Streifen werden kurz über die Oberfläche einer Lösung von *Van Urk*schem Reagens gezogen, wobei gleichmäßige, einseitige Benetzung erreicht wird. Die Streifen werden dann auf eine weiße Polyvinylplatte gelegt und zirka 3 Minuten dem UV-Licht ausgesetzt. Die blauen Flecke sind auf der weißen Unterlage gut sichtbar.

Wir sind Herrn Prof. *A. Stoll* für die Überlassung der wertvollen Alkaloidpräparate zu aufrichtigem Dank verpflichtet. An dieser Stelle möge auch dem Vorstand des Institutes, Frau Prof. *M. Perpar*, die die Anregung zu dieser Arbeit gegeben hat und sie mit wertvollen Ratschlägen förderte, der herzlichste Dank zum Ausdruck gebracht werden.

Zusammenfassung

Die von *Macek* und Mitarbeitern vorgeschlagene Methode zur Trennung der nativen, wasserunlöslichen Mutterkornalkaloide, bei der Formamid als stationäre und Benzol bzw. Benzol—Chloroform-Gemische als mobile Phase Anwendung finden, wurde weiter ausgearbeitet. Die R_f-Werte wurden für einzelne Reinalkaloide und ihre Gemische bestimmt und ihre Abhängigkeit vom p_H studiert. Neben den nativen Alkaloiden wurde auch ein Zersetzungsprodukt von Ergotamin erfaßt. Durch mit Zungen versehene Papierstreifen konnte der Trenneffekt beträchtlich gesteigert werden.

Summary

The method proposed by *Macek* and collaborators for the separation of the native, water-insoluble ergot alkaloids, in which formamide is the stationary phase and benzene or benzene-chloroform mixtures are used as the mobile phase, has been further developed. The R_f-values have been determined for the individual pure alkaloids and their mixtures, and a study has been made of their dependence on p_H. In addition to the native alkaloids, a decomposition product of ergotamine was also detected. The separation effect was considerably heightened by using paper strips provided with tongues.

Résumé

Développement de la méthode préconisée par *Macek* et ses collaborateurs pour la séparation des alcaloïdes naturels de l'ergot de seigle insolubles dans l'eau, dans laquelle la formamide est utilisée comme phase fixe et le benzène ou le mélange benzène-chloroforme comme phase mobile. Les valeurs R_f et leurs variations en fonction du p_H ont été étudiées pour quelques alcaloïdes purs et leurs mélanges. Outre les alcaloïdes naturels on a également identifié un produit de décomposition de l'ergotamine. A l'aide de bandes de papier pourvues de languettes il a été possible de faire croître de façon considérable l'effet séparateur.

Literatur

[1] *E. Diehl*, Österr. Apoth.-Ztg. **9**, 79 (1955).
[2] *L. Fuchs*, Scientia Pharm. **21**, 20 (1953).
[3] *M. Pöhm* und *M. Wichtl*, Scientia Pharm. **23**, 30 (1955).
[4] *K. Macek*, Pharmazie **9**, 420 (1954).
[5] *A. Stoll* und *A. Rüegger*, Helv. Chim. Acta **37**, 1725 (1954).
[6] *J. Tuzson* und *G. Vastagh*, Pharm. Acta Helv. **29**, 118 (1954).
[7] *L. Fuchs* und *M. Pöhm*, Scientia Pharm. **19**, 232 (1951).
[8] *A. M. Berg*, Dissert. Utrecht 1953.
[9] *H. Bräuniger*, Pharmazie **9**, 643 (1954).
[10] *H. Bräuniger*, Pharmazie **9**, 719 (1954).
[11] *H. Bräuniger*, Pharmazie **9**, 834 (1954).
[12] *G. E. Foster, J. Mac Donald* und *T. S. G. Jones*, J. Pharm. Pharmacol. **1**, 802 (1949).
[13] *J. E. Carless* und *H. B. Woodhead*, J. Pharm. Pharmacol. **3**, 793 (1951).
[14] *A. M. Berg*, Pharm. Weekbl. **87**, 282 (1952).
[15] *E. Thielman, W. Lang* und *H. Kaiser*, Arch. Pharm. **286**, 379 (1953).
[16] *K. Macek, A. Černý* und *M. Semonský*, Pharmazie **9**, 388 (1954).
[17] *M. Pöhm* und *L. Fuchs*, Naturwiss. **41**, 63 (1954).
[18] *K. Tanaka* und *T. Sugawa*, J. Pharm. Soc. Japan **72**, 616 (1952).
[19] *Z. Blažek* und *J. Böswart*, Pharmazie **8**, 851 (1952).
[20] *J. V. Koštíř, D. Rybař, B. Oulehla, J. M. Hais* und *M. Beran*, Československ. Farmac. **1**, 621 (1952).
[21] *H. Brindle, J. E. Carless* und *H. B. Woodhead*, J. Pharm. Pharmacol. **3**, 793 (1951).
[22] *H. D. Fowler*, Nature **168**, 1123 (1951).
[23] *M. Pöhm* und *L. Fuchs*, Naturwiss. **40**, 244 (1953).
[24] *Noel L. Allport* und *T. Tusting Cocking*, Quart. J. Pharm. Pharmacol. **5**, 341 (1932).
[25] *A. Silber* und *T. Schulze*, Pharmazie **8**, 675 (1953).
[26] *A. Stoll* und *W. Schlientz*, Helv. Chim. Acta **38**, 585 (1955).

Département de Microchimie de l'Université Libre de Bruxelles

Mise au point du microdosage spectrophotométrique direct du cobalt sur papier

Par

A. Lacourt et P. Heyndryckx

Avec 12 figures

(Reçu le 12 janvier 1956)

Les deux recherches auxquelles le présent travail fait suite sont relatives à la séparation chromatographique quantitative sur papier du *cobalt*, du *cuivre* et du *zinc*[1] et au dosage des taches élémentaires ainsi séparées[2].

La chromatographie sur papier offre des possibilités analytiques qualitatives et quantitatives exceptionnelles, surtout pour le travail à l'échelle du microgramme. Nous avons pu montrer, en puisant dans nos résultats quantitatifs, que les dosages faits après avoir passé par une chromatographie sont toujours plus reproductibles que sans chromatographie[3].

La chromatographie sur papier, n'a toutefois des chances de s'imposer comme microméthode quantitative pratique, que si la durée totale des opérations de dosage peut être écourtée.

Au début, on a pratiqué la *mesure directe des taches révélées sur papier* par photométrie en lumière blanche. La reproductibilité des résultats oscillant entre 10 et 20%, cette technique ne put de ce fait être préconisée comme moyen analytique. En l'appliquant au dosage de taches révélées de cobalt sur papier, il nous est apparu que cette faible reproductibilité est en grande partie imputable au papier lui-même.

Son opacité est en effet fonction de sa nature, de l'orientation de ses fibres, de son état d'humidité, de son conditionnement, du fait de son développement chromatographique ou non. On comprend que tant de facteurs, réunis ou séparés, peuvent influencer d'une manière aussi défavorable la reproductibilité de cette technique quand il n'en est pas tenu compte. Etant donné l'insuccès de la méthode photométrique

directe, nos efforts ont été orientés vers des procédés applicables en solution, après élution des taches chromatographiées. Ces méthodes détournées, indirectes, convenablement mises au point et pratiquées au-dessus de leur seuil de sensibilité nous ont toujours donné entière satisfaction du point de vue de la reproductibilité qui varie de $\pm$ 2 à 4%[4]. Avec elles, les opérations de chromatographie quantitative deviennent très longues et l'élution a pour effet d'entrainer à des dilutions qui sont peu favorables lorsque l'on se trouve très près du seuil de sensibilité des méthodes de dosage envisagées, dans le cas de petites quantités de substance à doser.

C'est ainsi que nous en sommes revenues aux *procédés directs de dosage* des *taches sur papier* et avons expérimenté le *titrage*. Pour le molybdène, le vanadium, le cobalt, le cuivre, le zinc, le nickel, les chlorures, déposés ou chromatographiés, la reproductibilité des résultats de titrage a varié de $\pm$ 3 à 4%[5]. *La photométrie directe en lumière blanche* peut être rendue plus reproductible si l'on tient compte des facteurs d'influence du papier dans l'opacité finale, notamment si l'on mesure dans des conditions standard, millimètre par millimètre, cette opacité pour le blanc et pour le complexe final. Le progrès se mesure par l'amélioration des résultats, l'accélération des opérations et le fait que l'échantillon, une fois mesuré, subsiste après le dosage, pouvant ensuite servir de pièce à conviction. Appliquée à des taches chromatographiées, il y a toutefois une difficulté à mesurer préalablement le blanc à l'endroit exact du papier où se formera la tache à doser, en particulier lorsque cette tache migre au-delà du dépôt.

L'erreur due à la vaporisation est en outre une erreur systématique qui pourrait ne pas être constante d'un endroit à l'autre du papier, ni d'une bandelette à une autre et qui peut être susceptible de fausser l'opacité attribuée au complexe lui-même.

La *spectrophotométrie directe des taches* au Beckman pour une *longueur d'onde* bien définie, permet une mesure globale du blanc et de la tache colorée. Les imperfections qui apparaissent, quand on dissèque photométriquement chaque millimètre de la bandelette, impressionnent *globalement* la cellule photoélectrique au Beckman. Dans des conditions standard de mesure, les blancs mesurés ainsi globalement sont si reproductibles qu'un seul par série d'essais peut suffir. D'autre part, cette reproductibilité étant acquise, la position de la tache à mesurer dans le chromatogramme devient sans importance, c'est-à-dire que cette technique devient simple, rapide et générale. Elle a été appliquée d'abord aux dosages des taches chromatographiées du *cobalt*, du *cuivre* et du *zinc* dans les conditions décrites dans notre première publication sur le sujet[1]. Les résultats de dosage par cette nouvelle méthode sur des taches chromatographiées sont toujours meilleurs que ceux obtenus sur des taches non

chromatographiées[3]. Le présent travail n'envisagera que la mise au point des dosages spectrophotométriques de taches de *cobalt* sur papier en se servant d'un spectrophotomètre Beckman. Nous envisagerons ultérieurement l'application de cette méthode aux autres éléments.

L'étude des complexes de ces sels avec le nitroso-R-sel et l'α-nitroso-β-naphtol, en solution, du point de vue de l'absorption, a montré que seul le deuxième réactif pouvait être utilisé en vue de dosages de cobalt sur papier. La longueur d'onde la plus favorable aux mesures, le conditionnement du papier, sa qualité, son mode de révélation, les conditions des mesures ont été étudiés pour aboutir à un mode opératoire standard et à l'établissement d'un diagramme de référence permettant le dosage de cet élément complexé sur papier — avec ou sans chromatographie. Pour des quantités variant de 3 à 0,1 μg, les erreurs passent de 1,3 à 14% pour les taches non chromatographiées; de 0,47 à 0,9% pour les taches chromatographiées.

Transmission des complexes du cobalt avec le nitroso-R-sel et l'α-nitroso-β-naphtol

I. Complexe cobalt-nitroso-R-sel

Ce complexe sert fréquemment en spectrophotométrie pour doser le cobalt en solution, mais divers auteurs ont éprouvé des difficultés pour exprimer les résultats à cause de l'influence qu'exerce sur ceux-ci la présence de l'excès de réactif dans le complexe[6]. Tandis que le réactif absorbe vers 490 mμ, le complexe présente son maximum d'absorption vers 420 mμ.

En travaillant avec deux concentrations de réactif, on trouve qu'il y a proportionnalité entre les unités de transmission du complexe et les concentrations en cobalt (de 5 μg jusque 0,5 μg) dans le cas où 1 mg de réactif est employé mais qu'elle n'existe plus lorsque la moitié de cette quantité est utilisée (voir Fig. 1 — concentration en cobalt 0,5 μg, concentration réactif 0,5 mg).

Pourtant dans les deux cas l'excès de réactif par rapport au cobalt est grand. Cette différence vient de l'interférence de l'absorption du réactif dans celle du complexe. Pour réaliser des mesures avec ce réactif, il faudrait toujours être en présence d'un même excès, de cette manière, l'erreur se maintiendrait constante. Ces erreurs observées en solution s'amplifieraient sur papier après vaporisation. Pour cette raison, nous n'avons donc pas poursuivi dans cette voie.

II. Complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol

Ce réactif et le complexe correspondant au cobalt ont tous deux un maximum d'absorption en solution vers 800 mμ et l'excès de réactif

n'exerce que peu d'influence sur la proportionnalité des transmissions en fonction des concentrations de cobalt (entre 3 et 5 μg) (Fig. 2).

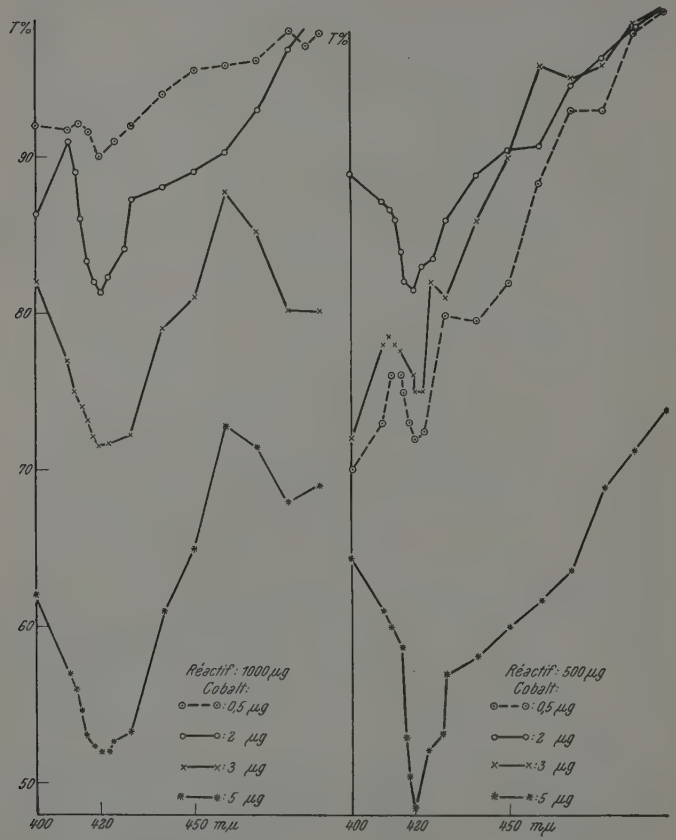


Fig. 1. Diagramme D_T. Influence de la concentration du réactif nitroso-R-sel

Pour s'en assurer, six concentrations de réactif ont été étudiées en présence de deux concentrations de cobalt. Le Tableau I montre que ces excès variables de réactif ont peu de répercussion sur la transmission du milieu au maximum d'absorption (800 mμ).

La concentration du réactif employé dans toutes les expériences ultérieures en solution et sur papier sera de 1 $g^0/_{00}$ dans l'acétone, parce

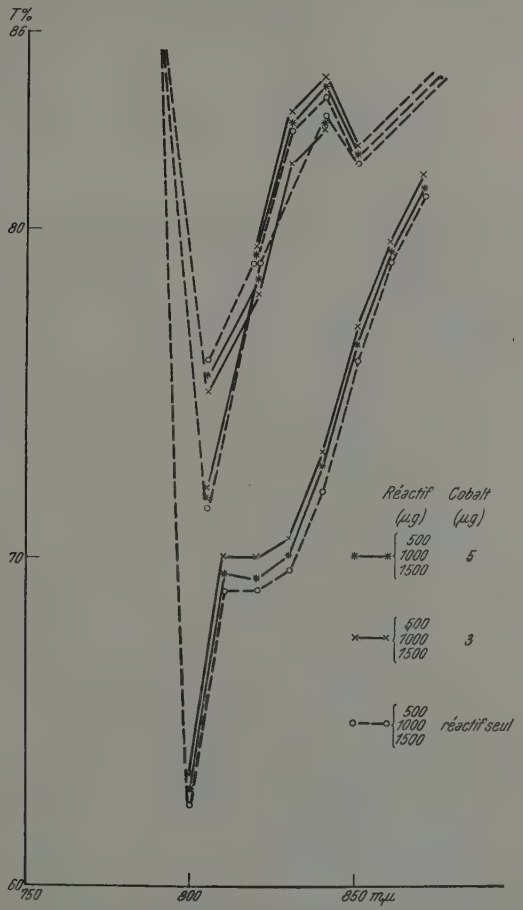


Fig. 2. Diagramme D_{II}. Recherche du maximum d'absorption du complexe et influence de la concentration en α-nitroso-β-naphtol sur la transmission

que c'est celle-là qui conduit à la densité optique la plus forte. Il est nécessaire de corriger la transmission des *solutions* de complexe par déduction d'un «blanc-réactif» pour obtenir un diagramme d'absorption

Tableau I. Influence des variations des concentrations en réactif sur la transmission du milieu

Concentrations de réactif expérimentées:

	µg	ml
A	500	0,50
B	1000	1,00
C	1500	1,50
D	2000	2,00
E	250	0,50
F	125	0,50

Mesures au Beckman, longueur d'onde 800 mµ, fente 0,010 mm, lampe au tungstène, photo-tube rouge, matras de 10 ml, cuvette de 1 cm (Fig. 2).

Concentr. réactif	Conc. cobalt en µg	Fente au maximum d'absorpt.	Unités de transmission au maximum d'absorption 800 mµ	Ecarts à la moyenne en unités de transm.	Ecarts %
A	3	0,025	72,0/72,0/72,2 *M/3: 72,0*	—/—/+ 0,2	—/—/+ 2,7
A	5	0,025	71,8/71,8/72,0 *M/3: 71,8*	—/—/+ 0,2	—/—/+ 2,7
B	3	0,020	63,4/63,4/63,6 *M/3: 63,4*	—/—/+ 0,2	—/—/+ 0,3
B	5	0,020	62,8/62,9/62,8 *M/3: 62,8*	—/+ 0,1/—	—/+ 0,1/—
C	3	0,020	75,0/75,3/75,0 *M/3: 75,0*	—/+ 0,3/—	—/+ 0,4/—
C	5	0,020	75,5/75,4/75,6 *M/3: 75,5*	—/— 0,1/+ 0,1	—/— 0,14/+ 0,14
D	3	0,020	75,9/76,0/76,1 *M/3: 76,0*	— 0,1/—/+ 0,1	— 1,3/—/+ 1,3
D	5	0,020	75,3/75,5/75,5 *M/3: 75,5*	— 0,2/—/—	— 0,26/—/—
E	3	0,010	80,0/79,9/79,8 *M/3: 79,9*	+ 0,1/—/— 0,1	+ 0,12/—/— 0,12
E	5	0,010	80,0/80,0/80,1 *M/3: 80,0*	—/—/+ 0,1	—/—/+ 0,12
F	3	0,015	80,0/79,9/80,1 *M/3: 80,0*	—/— 0,1/+ 0,1	—/— 0,12/+ 0,12
F	5	0,015	80,8/80,6/80,9 *M/3: 80,8*	—/— 0,2/+ 0,1	—/— 0,24/+ 0,12

du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol plus net (Fig. 3 et 4). Le maximum d'absorption du complexe en solution se situe comme on le voit à 800 mμ.

Par analogie avec ce qui se passe en solution, on sera tenu dans les expériences qui nous occupent et qui visent à spectrophotométrer les

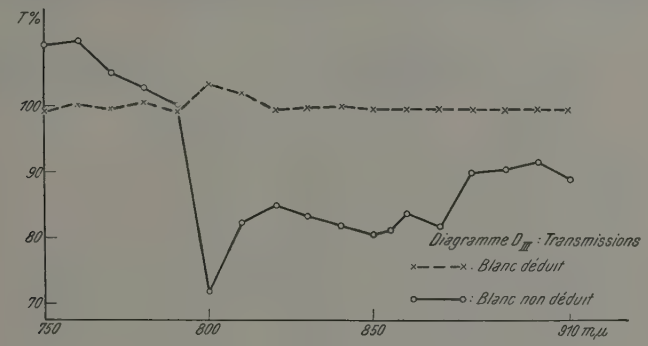


Fig. 3

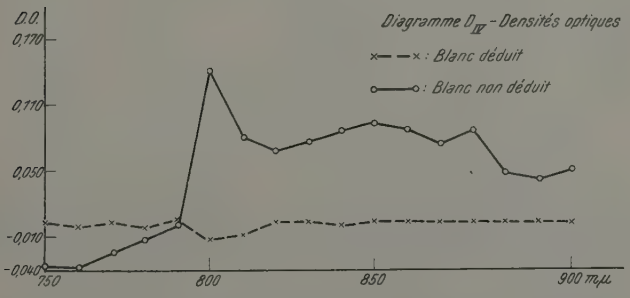


Fig. 4

Fig. 3 et 4. Diagramme d'absorption du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol *en solution* en tenant compte des « blancs réactif » (3 μg de cobalt)

complexes sur *papier*, d'étudier la manière de constituer les «blancs papier» par vaporisation et comment les mesurer avec exactitude.

Spectrophotométrie sur papier du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol

La spectrophotométrie directe sur papier, en lumière monochromatique n'a pas jusqu'ici été pratiquée ni étudiée[7]. Nous avons par conséquent dû trouver les conditions propices à de telles déterminations en nous servant du Beckman.

Une bandelette de papier blanc trempant dans l'eau bidistillée et placée entre la parois d'une cuvette de 1 cm et le piston calibré de verre dépoli de 9,0 mm, laisse passer la lumière. Il faut un peu d'adresse pour se débarrasser des bulles d'air. Lorsque la bandelette est bien plane, en place, il est possible de mettre l'appareil au point à 100% de trans-

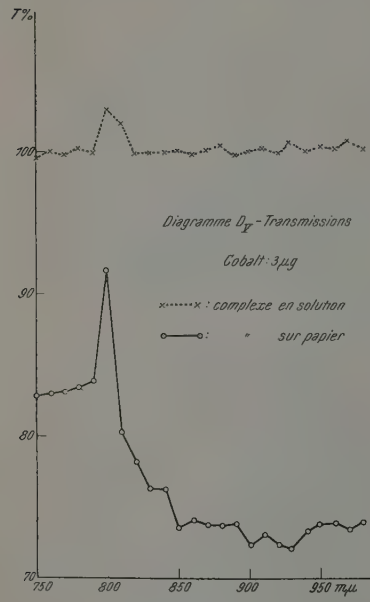


Fig. 5

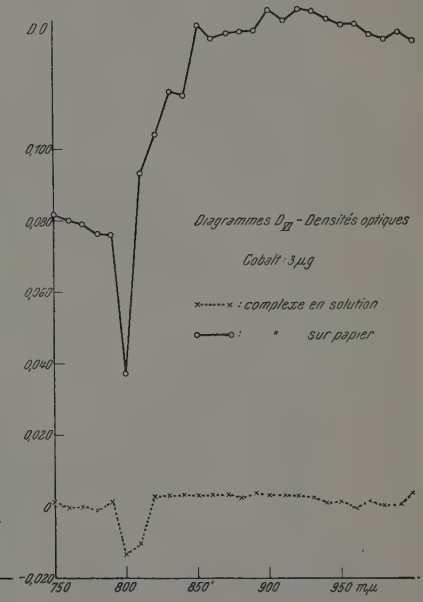


Fig. 6

Fig. 5 et 6. Définition de la longueur d'onde la plus favorable au travail sur papier (blanc déduit)

mission sur cette bandelette. Le fait d'imprégner le papier, de le plonger dans un liquide coloré, fait diminuer la transmission; il en est de même si la bandelette de papier blanc porte une tache de complexe révélé en face de la fenêtre de la cuvette. La tache de complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol sur papier baignant dans l'eau ou le réactif, possède un maximum d'absorption net à 800 mμ comme la solution (Fig. 5 et 6).

On s'est assuré que cette façon de procéder n'introduit pas de cause d'erreur du fait du passage en solution d'une infime partie de complexe ou de réactif vaporisé sur le papier. Tous deux sont en effet très peu solubles dans l'eau — 20 mg dans 100 ml pour le réactif notamment.

Pour une quantité donnée de cobalt, le nombre d'unités de transmission qui est effectivement attribuable au complexe lui-même dépend de la manière de constituer le blanc, de révéler le complexe sur le papier et de le mesurer. Si le maximum d'absorption du complexe et du réactif se situe à 800 mμ, les deux courbes ayant même allure (Fig. 2) on constate

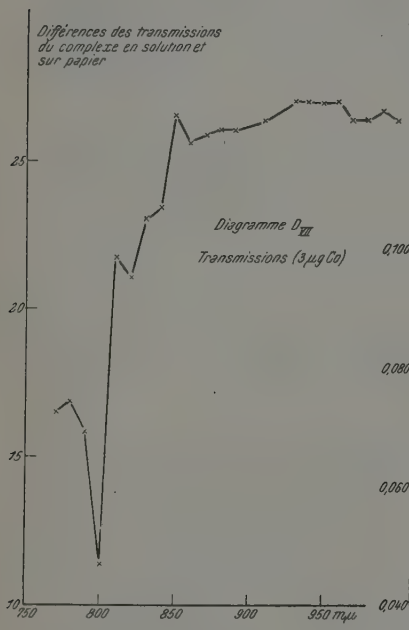


Fig. 7

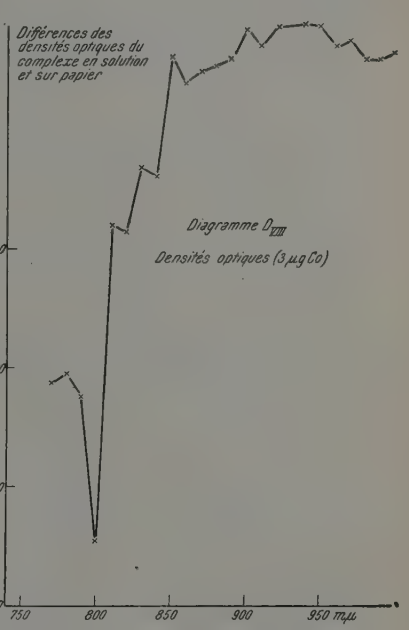


Fig. 8

Fig. 7 et 8. Définition de la longueur d'onde la plus favorable au travail sur papier

cependant que le plus grand écart en transmission et en densité optique entre les courbes d'absorption du complexe en solutions et de celui sur papier se situe vers 850 mμ (Fig. 7 et 8). Les écarts entre ces deux courbes portées sur un diagramme en fonction des longueurs d'onde donnent des graphiques qui accusent encore mieux ce maximum à 850 mμ.

Quatre modes différents de révélation et de mesure ont été expérimentés et les mesures de transmissions et de densités optiques ont été effectuées à 800 et à 850 mμ pour des taches de complexe correspondant à 3 μg de cobalt. Dans tous les cas, lorsqu'il est tenu compte des blancs, on constate que l'absorption est maximum à 850 mμ.

Mise au point du mode opératoire de révélation des taches

A. Modes de révélation de la tache de complexe

1ère méthode:

La bandelette de papier de 1 cm × 10 est imprégnée de réactif α-nitroso-β-naphtol acétonique à 1 g‰ par immersion complète. Elle est séchée ensuite sous I. R. pendant 15 minutes à 40°. Après séchage, cette bandelette est immergée dans la cuvette avec du réactif aqueux à 25 mg% et sa transmission est mesurée par rapport à une bandelette de papier blanc, sans imprégnation aucune, trempant dans l'eau bidistillée et correspondant à 100% de transmission. Ceci servira de base aux mesures faites dans les modes opératoires décrits par la suite.

Le *blanc papier* ainsi mesuré vaut en moyenne 4 à 5 unité de transmission et 0,017 à 0,022 unité de densité optique. Pour procéder à la *mesure du complexe*, il convient de sécher à nouveau ces bandelettes 15 minutes sous I. R. Sur la bandelette imprégnée, il est déposé une prise de cobalt (3 μg) qui est à nouveau séchée pendant 15 minutes sous I. R. Des auréoles se font facilement. On les évite en vaporisant sur les deux faces avec du réactif acétonique. Le blanc papier et cette dernière bandelette portant le complexe sont à nouveau comparées, l'une trempant dans l'eau bidistillée l'autre trempant dans le réactif aqueux à 25 mg%. Les transmissions (blanc déduit) sont respectivement pour le complexe correspondant à 3 μg de cobalt de 90,1% à 800 mμ et de 86,4% à 850 mμ, la fente employée étant de 0,065 mm dans le 1er cas, de 0,055 mm dans le second.

2ème méthode:

On adopte comme base 100% de transmission, la bandelette de papier blanc trempant dans l'eau bidistillée. Le *blanc papier* est imprégné comme dans la première méthode mais avec un réactif acétonique à 0,2 g%. La mesure est faite cette fois dans l'eau bidistillée. La *mesure du complexe* correspondant à 3 μg de cobalt, se fait sur la bandelette mesurée comme blanc papier. Après avoir été séchée à l'I. R., on y dépose la prise de cobalt, sèche 15 minutes, après avoir vaporisé les deux faces au réactif acétonique à 0,2 g%. La mesure se fait en trempant la bandelette dans l'eau bidistillée. Les transmissions (blanc déduit) sont, dans les mêmes conditions de fente (0,065 mm et 0,055 mm) de 93,5% à 800 mμ et de 80,1% à 850 mμ. Ces méthodes par imprégnation forcent à de nombreuses humidifications de ces bandelettes, ce qui en altère la texture. D'autre part, le fait de devoir mesurer sur la même bandelette, le blanc et la tache de complexe, pose un problème dans le cas où il s'agira de taches à chromatographier. Il est bien certain que cela créerait l'obligation de chromatographier une tache de cobalt complexée, ce qui ne donnerait pas du point de vue chromatographique les résultats obtenus précédemment. Nous abandonnons donc le procédé par imprégnation pour adopter celui de la vaporisation dans les modes opératoires que nous essayons ensuite.

3ème méthode:

La base de 100% de transmission est toujours réalisée de la même manière. Le *blanc papier* est constitué par une bandelette vaporisée sur les 2 faces à l'aide du réactif acétonique à la concentration de 1 g‰. La mesure se fait en trempant la bandelette dans l'eau bidistillée après sèchage habituel. La *mesure du complexe* se fait comme suit: Sur une bandelette de papier

blanc, on dépose la prise, sèche 15 minutes à 40° sous I. R., vaporise sur les deux faces au réactif acétonique à 1 g$^0/_{00}$, sèche à nouveau et mesure dans l'eau bidistillée. La transmission pour une tache de complexe correspondant à 3 μg de cobalt (fentes de 0,065 mm et 0,055 mm) est de 91,4% à 800 mμ et de 73,1% à 850 mμ.

On voit que c'est ce mode de mesure qui donne les transmissions les plus proches de celles en solution et que d'autre part, ce mode de travail ne risque pas d'abimer les bandelettes ni de troubler le travail chromatographique. Ce sera ce mode de mesure qui sera définitivement adopté par la suite.

4ème méthode:

Elle est pratiquée comme la 3è méthode, sauf que la vaporisation se fait avec un réactif acétonique dilué de moitié, c'est-à-dire à 0,5 g%. Les transmissions (blanc déduit) pour 3 μg de cobalt sont à la longueur d'onde de 800 mμ de 92,0% et à celle de 850 mμ de 81,2% en se servant des mêmes fentes que précédemment.

Le résumé de ces résultats de mesure sur papier pour 3 μg de cobalt sous la forme de son complexe avec l'α-nitroso-β-naphtol, par les quatre méthodes décrites est donné dans le Tableau II.

Tableau II. Modes de révélation du cobalt à l'α-nitroso-β-naphtol (Fig. 9)

N° de la révélat.	Imprégnation des bandelettes	Liquide assurant la transmission dans la cuvette	Révélation de la tache de cobalt
1	réactif acétonique conc. 1 g$^0/_{00}$	réactif aqueux conc. 25 mg%	réactif acétonique conc. 1 g$^0/_{00}$
2	réactif acétonique conc. 0,2 g$^0/_{00}$	eau bidistillée	réactif acétonique conc. 0,2 g$^0/_{00}$
3	—	eau bidistillée	réactif acétonique conc. 1 g$^0/_{00}$
4	—	eau bidistillée	réactif acétonique conc. 0,5 g$^0/_{00}$

Tableau III. Spectrophotométrie du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol sur papier

Effet du mode de révélation

3 μg de *cobalt* — Lampe au tungstène — Phototube rouge — Cuvette de 1 cm avec piston dépoli et calibré de 9 mm, fentes de 0,065 mm et 0,055 mm (blancs déduits)

	% Transmission				
	1ère Méthode	2ème Méthode	3eme Méthode	4ème Méthode	Réactif 1 g$^0/_{00}$
800 mμ	90,1	93,5	91,4	92,0	82,0
850 mμ	86,4	80,1	73,1	79,5	81,2

Les courbes d'absorption de ce complexe pour 3 μg de cobalt dans ces différentes conditions de travail sont données dans la Fig. 9 et montrent à nouveau une transmission minimum par le 3è procédé et pour une longueur d'onde de 850 mμ. C'est donc en adoptant la méthode de

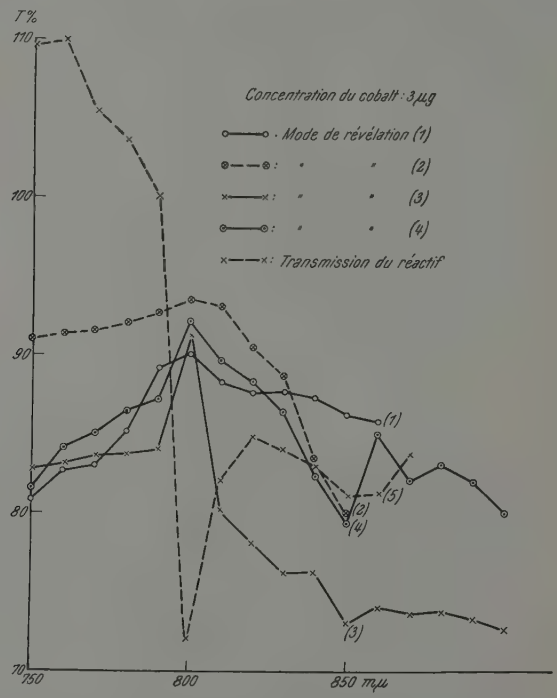


Fig. 9. Diagramme D_{IX}. Effets du mode de révélation sur la transmission du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol formé sur papier

travail 3 et la longueur d'onde de 850 mμ qu'un diagramme de référence va être tracé pour le dosage spectrophotométrique direct sur papier du cobalt révélé à l'α-nitroso-β-naphtol.

Il est très instructif de comparer à la fois l'allure des écarts en densité optique et en transmission à 850 mμ avec ceux à 800 mμ et dont l'ensemble des résultats ne nous ont pas parus utiles à publier.

Tableau IV. Diagramme de référence pour le dosage spectrophotométrique direct du cobalt complexé sur papier par l'α-nitroso-β-naphtol (Beckman)

Lampe au tungstène, phototube rouge, cuvette de 1 cm avec piston dépoli de 9 mm, longueur d'onde 850 mμ, fente 0,055, concentration du réactif: 1 g$^0/_{00}$

Conc. du cobalt en μg	Transmission du complexe (blanc déduit)	Ecarts à la moyenne en % de transmission	Ecarts % (Fig. 10)
3	26,7/26,8 26,8/26,9 *M/4: 26,8*	— 0,1/— —/+ 0,1	— 0,3/— —/+ 0,3
2	16,4/16,4 17,2/15,8 *M/4: 16,4*	—/— + 0,8/— 0,6	—/— + 4,9/— 3,9
1	10,0/9,8 8,9/10,7 *M/4: 9,9*	+ 0,1/— 0,1 — 1,0/+ 0,8	+ 1,0/— 1,0 — 11,0/+ 9,0
0,1	7,0/7,0 6,7/7,0 *M/4: 6,9*	+ 0,1/+ 0,1 + 0,2/+ 0,1	+ 1,4/+ 1,4 + 2,8/+ 1,4

Conc. du cobalt en μg	Densité optique du complexe (blanc déduit)	Ecarts à la moyenne en unités de densité optique	Ecarts % (Fig. 11)
3	0,134/0,135 0,135/0,135 *M/4: 0,135*	— 0,001/— —/—	— 0,7/— —/—
2	0,103/0,104 0,103/0,102 *M/4: 0,103*	—/+ 0,001 —/— 0,001	—/+ 0,9 —/— 0,9
1	0,074/0,073 0,075/0,072 *M/4: 0,074*	—/+ 0,001 + 0,001/— 0,002	—/— 1,3 + 1,3/— 2,6
0,1	0,045/0,045 0,044/0,046 *M/4: 0,045*	—/— — 0,001/+ 0,001	—/— — 2,2/+ 2,2

Le diagramme établi en densité optique dans ces conditions opératoires est en ligne droite de 0,1 à 3 μg, alors qu'à 800 mμ il ne l'était pas. L'emploi de ces unités pour établir le diagramme de référence est plus répandu, mais il est également plus avantageux que la transmission parce que la

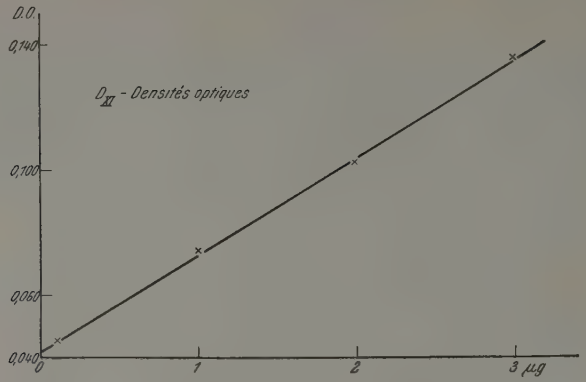


Fig. 10

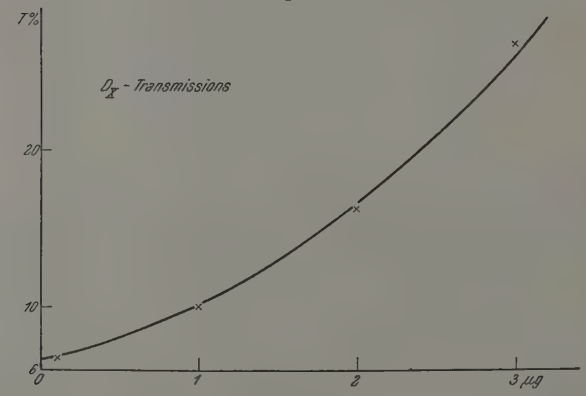


Fig. 11

Fig. 10 et 11. Diagrammes de référence établis à la longueur d'onde la plus favorable au travail sur papier (850 mµ)

Tableau V

Tableau comparatif des écarts % obtenus dans les diagrammes de références établis à 850 et 800 mµ

Concentrat. du cobalt en µg	Diagramme de référence à 850 mµ Mode de révélation (3)		Diagramme de référence à 800 mµ Mode de révélation (1)	
	Transmission Ecarts % extrêmes	Densité optique Ecarts % extrêmes	Transmission Ecarts % extrêmes	Densité optique Ecarts % extrêmes
3	0,3	0,7	0,22	4,3
2	4,9	0,9	0,30	8,7
1	11,0	2,6	0,42	8,0
0,1	2,8	2,2	0,30	7,1

lecture porte sur un plus grand nombre d'unités de l'échelle. Les écarts % et ceux à la moyenne bénéficient de ces mêmes avantages et sont également plus faibles qu'avec le premier procédé (800 mμ). Si toutefois on examine les transmissions et densités optiques des «blancs» on constate de très grandes irrégularités qui affectent la reproductibilité des mesures des complexes (Tableau VI).

Tableau VI. Blancs

Transmission en %	Densité optique en unité
58,0/60,8/56,5/56,5	0,236/0,216/0,247/0,247
77,0/76,9/81,1/75,9	0,113/0,113/0,091/0,119
64,1/63,0/56,1/68,8	0,192/0,200/0,249/0,162
81,1/77,0/76,9/77,1	0,091/0,113/0,113/0,112

Reproductibilité des transmissions des complexes de cobalt

Conc. du cobalt en μg	Ecarts % Blancs non déduits	Ecarts % Blancs déduits
3	+ 0,48/+ 9,1/— 4,6/— 4,9	— 0,3/0/0/+ 0,3
2	— 0,9/— 1,1/+ 4,4/— 4,9	0/0/+ 4,8/— 3,6
1	+ 1,7/+ 0,09/— 11,1/+ 9,3	+ 1,0/— 1,0/— 10,0/+ 7,9
0,1	+ 4,2/— 1,5/— 1,2/— 1,4	+ 1,4/+ 1,4/— 2,8/+ 1,4

Ces irrégularités ont pour conséquence qu'il faut dans *chaque mesure* tenir compte du blanc propre du papier, ce qui — comme nous l'avons déjà dit — est difficile à mettre en pratique lorsque la tache chromatographiée migre. C'est d'autre part un travail supplémentaire fastidieux et une perte de temps que celui passé à faire des blancs. Sans compter que c'est malgré tout aléatoire au point de vue de la reproductibilité finale du dosage. La conclusion qui s'impose ici est que l'étude de la spectrophotométrie sur papier est à approfondir, jusqu'à trouver des conditions standard de reproductibilité spectrophotométrique du papier lui-même. C'est cette étude que nous allons entreprendre, avant de passer à la spectrophotométrie directe des taches chromatographiées.

Standardisation spectrophotométrique du papier Whatman N° 4

Jusqu'ici, les bandelettes de 10 cm × 1 découpées dans des feuilles rondes de papier Whatman n° 4 ont été utilisées à la confection des blancs et des colorés. Elles étaient sorties de la boîte de réserve au moment du découpage. Les différentes conditions expérimentales qu'il est possible

de changer — dans cette étude — si l'on s'en tient au même n° de papier Whatman, sont le sens de l'orientation des fibres et le conditionnement du papier en degrés différents d'humidité.

Etant donné, que les mesures d'absorption se font sur la bandelette trempant dans l'eau, le conditionnement du papier n'influera que très peu sur ces mesures. Il est toutefois absolument nécessaire de procéder toujours de la même manière à la préparation du papier. Toutefois, l'effet de l'eau du bain de trempage des bandelettes peut ne pas être identique quant à la transmission finale de la lumière par le papier selon que le papier est totalement séché ou conditionné à un taux différent d'humidité.

Des mesures d'absorption du papier différemment conditionné ont été faites *à sec*, c'est-à-dire en plaçant la bandelette entre le piston et la parois de la cuvette, *sans eau*. Ces déterminations mettent bien en vedette l'opacité différente du papier selon son mode de conditionnement et selon l'orientation de ses fibres[8]. Ces chiffres sont très différents de ceux que nous aurons à utiliser comme blancs et présentent des écarts entre eux s'élevant jusqu'à 2,6% en transmission et 4% en densité optique.

La séparation chromatographique étudiée se pratiquant sur du papier conditionné à 52% d'humidité, nous mesurerons les blancs sur du papier conditionné au départ de cette manière. La transmission de bandelettes conditionnées à 52% d'humidité découpées dans des feuilles Whatman n° 4 et dans des rubans est mesurée en les trempant dans l'eau. Elles sont placées dans le dispositif habituel, au Beckman, dans les conditions courantes: lampe au tungstène, phototube rouge, longueur d'onde 850 mμ, fente 0,040 mm*. Le Tableau VII rend compte des différences observées dans ces conditions.

Tableau VII. Blancs papiers mesurés dans des conditions différentes

Bandelettes découpées hors de *feuilles* conditionnement du papier — avant et après mesures — à 52% d'humidité		Bandelettes découpées hors de *rubans*	
Transmission %	Unité de densité optique	Transmission %	Unité de densité optique
77,9/72,1/71,1/71,1	0,108/0,142/0,148 0,147	74,8/74,9/75,0/75,0	0,127/0,128/0,124 0,124
M/4: 73,0	*M/4: 0,136*	*M/4: 74,9*	*M/4: 0,125*
77,6/72,2/71,3/71,3	0,110/0,141/0,145 0,144	75,0/75,0/74,9/75,0	0,124/0,124/0,126 0,124
M/4: 73,1	*M/4: 0,135*	*M/4: 75,0*	*M/4: 0,124*

* Cette fente plus petite a pu être utilisée à la suite d'un changement dans la source lumineuse.

Ecarts entre les moyennes extrêmes de ces mesures

Feuilles		*Rubans*	
Transmission	Densité optique	Transmission	Densité optique
± 6%	± 9%	± 0,1%	± 0,8%

La conclusion à tirer est que les mesures faites sur du papier ruban conditionné et reconditionné pendant un jour et une nuit à 52% d'humidité sont beaucoup plus reproductibles que sur feuilles traitées de la même façon. Le fait de retremper la bandelette dans l'eau n'a pas d'effet appréciable sur l'absorption de la lumière par le papier, si on a soin de reconditionner le papier de la même façon — avant et après la mesure. Les chiffres suivants en sont la preuve.

Valeurs des transmissions du blanc papier après conditionnement à 52%:

74,8/74,9/74,9/74,8

Une seconde mesure est faite après trempage et reconditionnement à 52% d'humidité:

75,0/75,0/74,9/75,0

On peut donc réaliser des *blancs papiers* très reproductibles en les mesurant sur ruban de papier dans les conditions indiquées ci-dessus. Comme ces blancs doivent servir de base de comparaison dans la mesure de taches de cobalt colorées par vaporisation à l'α-nitroso-β-naphtol, il serait intéressant de voir si après vaporisation du papier une reproductibilité aussi bonne peut être obtenue dans les mesures de *blancs vaporisés*.

Tableau VIII. Blancs papiers vaporisés mesurés dans les conditions précédentes

Bandelettes découpées hors de rubans Whatman n° 4 — 52% d'humidité, unité de *densité optique*

Blanc papier	Blanc papier vaporisé		
0,125/0,126/0,125	0,131/0,129/0,128	0,132/0,131/0,132	0,128/0,128/0,129
M/3: 0,125	*M/3: 0,129*	*M/3: 0,132*	*M/3: 0,128*

La reproductibilité des *blancs papiers vaporisés* est moins bonne que celle des *blancs papiers* avec des écarts extrêmes de ± 3%. La moyenne étant de 0,130 unité de densité optique, soit 0,005 unité de plus que pour le *blanc papier*. En faisant usage de ce *blanc vaporisé*, on se rapproche toutefois mieux de la valeur réelle du blanc à faire intervenir dans le résultat d'une absorption d'une tache colorée.

On verra par la suite que dans le cas de mesures de taches chromatographiées l'usage de ce *blanc papier vaporisé* fournit un diagramme rectiligne de référence et des valeurs de densité optique des taches qui sont de 0,017 unité plus élevées que celles de ces mêmes références non chromatographiées — toutes autres choses étant égales. Ceci revient à dire que la déduction du *blanc papier vaporisé* dans le cas d'une concentration quelconque chromatographiée, enlève de la densité optique globale un blanc trop faible de 0,017 unité de D. O. Ces 0,017 unité correspondent aux modifications du papier lors de la chromatographie. Il serait peut être plus rigoureux donc de faire intervenir la densité optique d'un blanc papier chromatographié et vaporisé par la suite. Toutefois, du point de vue pratique, nous nous sommes abstenues, car ceci n'aurait comme conséquence que de rapprocher le diagramme de référence des valeurs chromatographiées de celui des valeurs non chromatographiées. On n'obtiendrait pas rigoureusement concordance de ces deux valeurs, car dans la chromatographie sur papier d'une goutte de solution de cobalt, interviennent d'autres facteurs que l'action pure et simple du solvant sur les éléments du papier. Il suffit pour s'en convaincre de mesurer la densité optique d'une bandelette de papier chromatographiée portant seulement 0,01 ml de solution HCl 50% *v/v* qui est la solution de base des solutions de cobalt. Après vaporisation et traitement habituel, la densité optique de cette bandelette est de 0,068/0,065/0,067/0,066 unité.

Il sera très difficile de réaliser un *blanc chromatographié* dont la valeur en densité optique soit exactement celle de la part d'influence du papier vaporisé chromatographié, parce qu'il faut l'intervention combinée des solvants *et* des solutions pour constituer un tel blanc. Ces interférences dissociées comme lorsqu'il s'agit de la solution de base, fournissent des blancs absolument aberrants.

Mieux vaut dès lors adopter une seule sorte de *blanc standard* facile à réaliser pour mesurer toutes les références (chromatographiées et non chromatographiées). Ce blanc papier vaporisé adopté dans toutes les mesures qui vont suivre et pour l'établissement des diagrammes de référence a une valeur moyenne de 0,130 unité de densité optique.

Il reste à savoir s'il est nécessaire du point de vue de la reproductibilité de procéder à la mesure de blancs *individuels*, pour chaque détermination ou si on peut se contenter *d'un seul* blanc standard moyen pour toute une série de mesures.

La réponse à cette question sera donnée par les chiffres du Tableau IX.

Ces résultats montrent que l'erreur atteint au maximum 1% si au lieu de faire des blancs individuels on adopte dans une série de mesures de 3 μg de cobalt un seul blanc papier vaporisé standard. Cette erreur porte évidemment sur les valeurs en transmission et en densité optique de 3 μg de cobalt révélé à l'α-nitroso-β-naphtol.

Tableau IX. Valeurs comparées des résultats d'absorption pour le complexe correspondant à 3 μg de cobalt compte tenu de blancs individuels ou de blancs papiers vaporisés

Transmission			Densité optique		
Blanc individ. déduit (1)	Blanc stand. déduit (2)	Ecarts % (1)—(2)	Blanc individ. déduit (1)	Blanc stand. déduit (2)	Ecarts % (1)—(2)
			Non chromatographié		
7,3/7,1/7,0 7,4 *M/4: 7,2*	7,4/7,1/7,2 7,4 *M/4: 7,3*	1,3	0,043/0,042 0,041/0,044 *M/4: 0,042*	0,044/0,042 0,043/0,044 *M/4: 0,043*	2,4
			Chromatographié		
13,9/13,9 13,7/13,9 *M/4: 13,9*	13,9/13,8 13,8/13,8 *M/4: 13,8*	0,7	0,096/0,096 0,094/0,096 *M/4: 0,096*	0,096/0,095 0,095/0,095 *M/4: 0,095*	1,0

Etant donné l'avantage pratique que comporte la réduction du nombre de blancs au point de vue du gain de temps et surtout au point de vue de la possibilité de mesurer les taches migrant, il parait avantageux de recommander la méthode qui n'utilise qu'un seul blanc standard par série de mesures. C'est cette méthode qui va être décrite à l'occasion de l'établissement des diagrammes de référence qui vont suivre.

Diagrammes de référence pour le dosage spectrophotométrique direct sur papier du cobalt révélé l'α-nitroso-β-naphtol

La mise au point du dosage s'est jusqu'ici bornée à n'envisager que le cas de 3 μg de cobalt complexé. Nous rappelons que les bandelettes de papier utilisées sont taillées dans des rubans (fibres orientées) de papier Whatman n° 4 aux dimensions de 10 cm $\times$ 1, conditionnées à 52% d'humidité. La goutte de solution de cobalt est déposée à 3,5 cm d'une des extrémités, elle est séchée à 40° et vaporisée sur les deux faces à l'acétone puis au réactif α-nitroso-β-naphtol à 1 g°/$_{00}$. La tache révélée est ensuite séchée 15 minutes aux I. R. à environ 40°. La mesure se fait au Beckman (lampe au tungstène, phototube rouge, longueur d'onde 850 mμ, fente de 0,040 mm, cuvette de 1 cm avec piston de verre calibré de 9 mm). La bandelette de papier (*blanc standard* ou *colorée*) est introduite *sèche* entre la parois de la cuvette et celle du piston*. Quelques gouttes d'eau sont introduites pour mouiller le système et par le jeu du piston, les bulles d'air sont éliminées. Le niveau de l'eau dans la cuvette ne doit pas dépasser celui permis dans le cas des mesures sur des solutions.

* La longueur en excès est plissée deux fois en accordéon sous le piston.

Il est fait un blanc par série de mesures (3 bandelettes colorées). Après la mesure, les bandelettes peuvent être retirées, séchées et conservées.

Dans le cas du diagramme de solutions *non chromatographiées* (Tableau X et Fig. 12), les points représentatifs des densités optiques se placent en ligne droite de 0,1 à 3 μg de cobalt.

Le cas de la *chromatographie* a ensuite été envisagé. Le diagramme correspondant est pratiquement parallèle à l'autre et supérieur.

Nous rappellerons que le présent travail fait suite à une mise au point de séparation chromatographique quantitative sur papier du *cobalt*, du *cuivre* et du *zinc*. Nous rappellerons aussi que la séparation de ces éléments est réellement quantitative[2] dans les conditions suivantes:

La chromatographie se fait sur des bandelettes de papier de 30 cm $\times$ 1 conditionnées à 52% d'humidité. Dans une cuve, huit bandelettes

Tableau X

Cobalt non chromatographié

Unité de densité optique calculée	Ecarts à la moyenne	Unité de densité optique calculée	Ecarts à la moyenne
Concentration en cobalt: 3 μg		Concentration en cobalt: 1 μg	
0,049/0,050	— 0,0011/— 0,0001	0,021/0,020	+ 0,0001/— 0,0009
0,050/0,051	— 0,0001/+ 0,0009	0,021/0,020	+ 0,0001/— 0,0009
0,050/0,051	— 0,0001/+ 0,0009	0,022/0,021	+ 0,0011/+ 0,0001
0,050/0,049	— 0,0001/— 0,0011	0,022/0,021	+ 0,0011/+ 0,0001
0,051/0,049	+ 0,0009/— 0,0011	0,022/0,020	+ 0,0011/— 0,0009
0,050/0,049	— 0,0001/— 0,0011	0,020/0,021	— 0,0009/+ 0,0001
0,051/0,050	+ 0,0009/— 0,0001	0,021/0,022	+ 0,0001/+ 0,0011
0,050/0,051	— 0,0001/+ 0,0009	0,021/0,021	+ 0,0001/+ 0,0001
0,050/0,051	— 0,0001/+ 0,0009	0,020/0,021	— 0,0009/+ 0,0001
M/18: 0,0501		*M/18: 0,0209*	
Concentration en cobalt: 2 μg		Concentration en cobalt: 0,1 μg	
0,035/0,034	— 0,0008/— 0,0018	0,010/0,009	+ 0,0009/— 0,0001
0,035/0,036	— 0,0008/+ 0,0002	0,010/0,010	+ 0,0009/+ 0,0009
0,035/0,036	— 0,0008/+ 0,0002	0,009/0,008	— 0,0001/— 0,0021
0,036/0,037	+ 0,0002/+ 0,0012	0,009/0,008	— 0,0001/— 0,0021
0,036/0,037	+ 0,0002/+ 0,0012	0,009/0,009	— 0,0001/— 0,0001
0,036/0,036	+ 0,0002/+ 0,0002	0,008/0,009	— 0,0021/— 0,0001
0,036/0,035	+ 0,0002/— 0,0008	0,009/0,010	— 0,0001/+ 0,0009
0,036/0,037	+ 0,0002/+ 0,0012	0,009/0,010	— 0,0001/+ 0,0009
0,036/0,036	+ 0,0002/+ 0,0002	0,009/0,010	— 0,0001/+ 0,0009
M/18: 0,0358		*M/18: 0,0091*	

Cobalt chromatographié

Unité de densité optique calculée	Ecarts à la moyenne	Unité de densité optique calculée	Ecarts à la moyenne
Concentration en cobalt: 3 μg		Concentration en cobalt: 1 μg	
0,064/0,063	—/— 0,001	0,037/0,039	— 0,0007/+ 0,0013
0,064/0,065	—/+ 0,001	0,038/0,036	+ 0,0003/— 0,0017
0,063/0,064	— 0,001/—	0,037/0,037	— 0,0007/— 0,0007
0,064/0,062	—/— 0,002	0,039/0,038	+ 0,0013/+ 0,0003
0,063/0,064	— 0,001/—	0,038/0,037	+ 0,0003/— 0,0007
0,065/0,064	+ 0,001/—	0,038/0,038	+ 0,0003/+ 0,0003
0,066/0,064	+ 0,002/—	0,037/0,038	— 0,0007/+ 0,0003
0,065/0,064	+ 0,001/—	0,039/0,038	+ 0,0013/+ 0,0003
0,065/0,063	+ 0,001/— 0,001	0,037/0,038	— 0,0007/+ 0,0003
M/18: 0,0640		*M/18: 0,0377*	
Concentration en cobalt: 2 μg		Concentration en cobalt: 0,1 μg	
0,051/0,050	—/— 0,001	0,026/0,027	— 0,0007/+ 0,0003
0,051/0,050	—/— 0,001	0,026/0,028	— 0,0007/+ 0,0013
0,049/0,050	— 0,002/— 0,001	0,027/0,028	+ 0,0003/+ 0,0013
0,051/0,052	—/+ 0,001	0,027/0,026	+ 0,0003/— 0,0007
0,051/0,051	—/—	0,027/0,026	+ 0,0003/— 0,0007
0,050/0,051	— 0,001/—	0,027/0,027	+ 0,0003/+ 0,0003
0,052/0,051	+ 0,001/—	0,026/0,026	— 0,0007/— 0,0007
0,051/0,051	—/—	0,025/0,027	— 0,0017/+ 0,0003
0,052/0,050	+ 0,001/— 0,001	0,028/0,027	+ 0,0013/+ 0,0003
M/18: 0,0510		*M/18: 0,0267*	

sont traitées en même temps pour conserver l'humidité globale nécessaire à l'intérieur des cuves. La prise de solution de cobalt se dépose à 4 cm du haut de la bandelette et est *développée humide* (développement descendant 45 minutes). Les cuves de développement sont préparées au moins 24 heures à l'avance. On utilise un développant, un saturant et un contaminant pour la préparation desquels on doit suivre rigoureusement les indications données ici.

1° Le *saturant* est également réparti dans 5 godets; quatre sont symétriquement placés dans le fond de la cuve et un dans le haut, sur la plaque centrale. Il est bon de mettre un peu d'ouate cellulosique dans ce dernier. Le saturant est constitué de 100 ml de *méthyl éthyl cétone fraîchement distillée* et non séchée.

2° Le *développant* est également de la *méthyl éthyl cétone fraîchement distillée* dont 60 ml sont placés dans la cuve au moment de sa saturation. Cette réserve pour trois développements reste dans la cuve sauf pendant

les 45 minutes que dure le développement du chromatogramme. 20 ml sont prélevés lors de chaque développement. Le fait de séjourner dans la cuve, a pour effet de contaminer d'une façon minime ce développant. Cette contamination est favorable à la séparation quantitative des éléments.

3° Le *contaminant* est placé symétriquement à côté du saturant. On le prépare en agitant 30 ml de *méthyl éthyl cétone fraîchement distillée* avec 5 ml d'eau bidistillée. La couche organique est prélevée et répartie dans 6 godets dans la cuve[9]. Après chromatographie, les bandelettes sont débarrassées du solvant sous I. R. vers 40°, puis vaporisées à l'acétone et au réactif comme il est dit plus haut. Les bandelettes sont coupées sur 10 cm, plissées à un bout deux fois en accordéon et ce plissé est introduit sous le piston calibré. Cette manière de procéder fixe mieux la bandelette; la mesure de la tache se fait tête en bas.

Les résultats consignés dans le Tableau X permettent de tracer les diagrammes de référence (Fig. 12) et de calculer pour chaque concentration de *cobalt* l'erreur quadratique moyenne et l'erreur en pourcent.

Tableau XI. Erreurs quadratiques moyennes et en pourcent dans la spectrophotométrie directe sur papier du cobalt révélé a l'α-nitroso-β-naphtol

Non chromatographié			Chromatographié	
Conc. cobalt en μg	Erreur quadratique moyenne	Erreur %	Erreur quadratique moyenne	Erreur %
3	0,00073	1,3	0,0003	0,47
2	0,00072	2,0	0,0002	0,39
1	0,00072	3,4	0,0008	2,10
0,1	0,00400	14,0	0,0002	0,90

Il est tout à fait remarquable de constater que la chromatographie améliore considérablement la reproductibilité de ces résultats.

Pour 0,1 μg de cobalt, l'erreur % ne dépasse pas 0,9% et tous les écarts sont inférieurs à ceux acceptés dans la spectrophotométrie des solutions. L'effet favorable de la chromatographie sur la reproductibilité des résultats de dosage est un phénomène que nous avons maintes fois observé au cours de nos recherches[3].

Les deux diagrammes de référence sont parfaitement rectilignes pour des valeurs variant de 0,1 à 3 μg de cobalt. Il sont presque parallèles.

Nous insisterons sur *l'accélération* du travail par ce mode de dosage. L'accélération est due, d'une part au fait que dans une seule opération de développement (une seule cuve) huit bandelettes se traitent en une seule fois et qu'ainsi deux résultats pour quatre concentrations différentes peuvent être obtenus dans le même temps que pour une seule concen-

tration. Ceci présente en outre l'avantage, qu'en présence d'une solution de concentration inconnue, il suffit d'en prospecter simultanément quatre dilutions pour se trouver dans les limites de concentration prévues par les diagrammes de référence ci-dessus. La seconde raison d'accélération

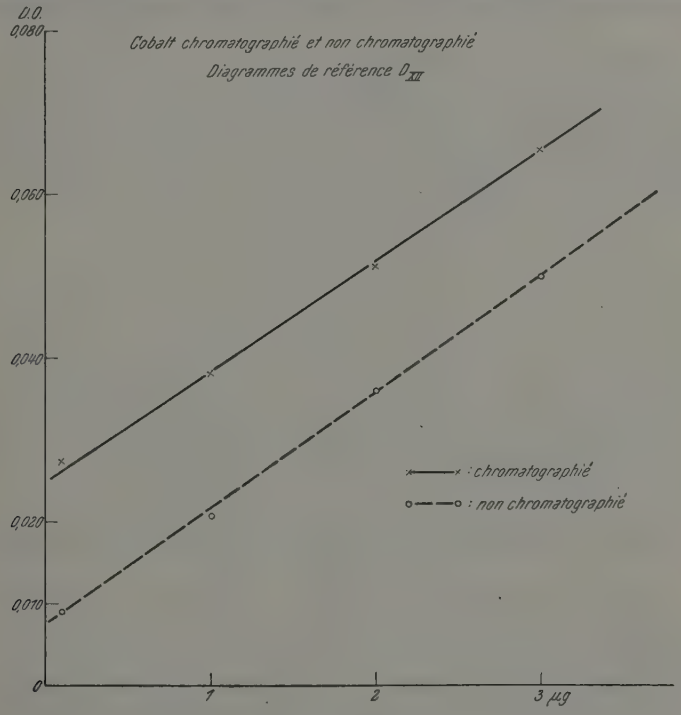


Fig. 12. Spectrophotométrie directe sur papier du complexe cobalt-α-nitroso-β-naphtol

du travail est le fait qu'un seul *blanc vaporisé standard* est nécessaire pour toute une série d'essais. L'ensemble de toutes les manipulations depuis la chromatographie, jusqu'au dosage peut être estimé à trois heures maximum et ce, pour doser huit taches de complexe. Accessoirement nous avons pu faire deux observations intéressantes relatives à *l'influence du volume des prises* et de la *concentration* en *cobalt* sur les *dimensions des taches* chromatographiées. Ces constatations résultent du fait que les prises sont développées humides; en effet dans le cas de prises développées après dessiccation, jamais nous n'avons fait pareille constatation. D'autre part, ces observations n'ont aucune répercussion en lumière monochromatique sur les mesures des densités optiques des taches

colorées, pour autant que les dimensions de celles-ci cadrent avec celles de la fenêtre de la cuvette du Beckman. Au contraire, en lumière blanche, il faudra tenir compte des facteurs d'influence cités ici, parce que l'opacité de la tache est mesurée millimètre après millimètre et que les surfaces photométriques correspondantes sont fonction des dimensions des taches.

I. Influence de la concentration en cobalt sur les dimensions des taches chromatographiées

Les dimensions des taches colorées chromatographiées correspondant à des quantités de cobalt variant de 1 à 3 μg restent pratiquement constantes, pour autant que les prises proviennent du même volume de solution: 0,01 ml dans le cas expérimenté.

Concentration en cobalt	Longueur des taches (en mm)	
3 μg	46/48/44	M/3: 46
2 μg	46/46/46	M/3: 46
1 μg	45/46/47	M/3: 46

Dans ces limites de concentrations étudiées ici, on peut donc être assuré de dimensions identiques pour les taches. C'est-à-dire que des solutions diluées au tiers fourniront des taches de même grandeur si la prise a été faite dans le même volume pour toutes trois.

II. Influence des volumes de solution de cobalt sur les dimensions des taches chromatographiées

Le volume de la prise a une influence considérable sur la dimension des taches chromatographiées: la tache est d'autant plus petite que la prise elle-même est plus petite. L'influence du volume de prise sur les dimensions des taches a été étudiée pour 3 μg de cobalt provenant de solutions 50% *v/v* chlorhydrique de chlorure de cobalt: $CoCl_2 \cdot 6\,H_2O$.

Tableau XII

Volume de prise ml	Mesures des taches à partir du sommet de la bandelette mm	Longueur des taches mm	
0,003	40—65/40—66/40—66/40—67 40—67/40—65	25/26/26/27/27/25	M/6: 26
0,005	39—74/40—76/38—74	35/36/36	M/3: 36
0,010	34—80/35—83/38—82	46/48/44	M/3: 46

On constate qu'il y a une certaine proportionnalité entre les dimensions des taches et les volumes de prises développées. Etant données nos conclusions ci-dessus, nous pouvons dire que ces dimensions varient en

fonction du volume quelles que soient les concentrations en cobalt. Ceci reste vrai si d'autres éléments sont présents dans la solution de cobalt chromatographié. L'expérience a été faite sur une solution contenant en mélange $CoCl_2 \cdot 6\,H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2\,H_2O$, $ZnCl_2$, 50% *v/v* HCl, à raison de 3 μg de chacun des éléments dans 0,003 ml.

Les dimensions à partir du sommet de la bandelette sont: 40—64/40—66/39—63/40—66/40—65 mm.

Les longueurs des taches correspondantes sont: 24/26/24/26/25 mm, M/5: 25, alors que la moyenne était de 26 pour une solution simple de sel de cobalt. On peut donc régler à l'avance la grandeur de la tache de cobalt à mesurer en choisissant une prise appropriée à l'expérience que l'on veut réaliser et indépendamment de la concentration en cobalt dans la solution. Ceci a une grande importance en photométrie en lumière blanche où l'opacité du complexe par unité de surface influe sur la planimétrie. En spectrophotométrie, celà est moins important du fait que le coloré est mesuré globalement. On peut se convaincre de cette différence et de l'insensibilité des résultats spectrophotométriques vis-à-vis des variations des volumes de prises dans certaines limites et pour le cobalt. En effet le diagramme de référence a été établi pour des concentrations variant de 0,1 à 3 μg de cobalt et avec des prises variant de 0,01 à 0,002 ml, la reproductibilité des résultats étant supérieure à 1%.

La mesure globale des taches en spectrophotométrie permet donc de travailler avec des volumes différents de prises — pour ce qui concerne le cobalt. Ceci constitue un avantage supplémentaire sérieux de la spectrophotométrie directe sur papier sur la photométrie en lumière blanche.

Conclusions

Le dosage spectrophotométrique direct sur papier mis au point au cours de cette étude est un grand progrès sur le dosage photométrique en lumière blanche réalisé précédemment[8] surtout par la suppression de l'obligation de faire des blancs individuels. La reproductibilité des blancs vaporisés comme nous les décrivons ici a pour conséquence qu'il suffit de ne tenir compte que d'un seul blanc standard par série de mesures, réalisant ainsi un gain de temps considérable. A cet avantage, il faut ajouter celui que ce dosage sera extensible à des taches chromatographiques qui migrent au-delà du dépôt, à cause de cette possibilité de n'envisager qu'un blanc standard moyen.

En effet, dans le cas de la photométrie en lumière blanche, l'obligation de mesurer millimètre par millimètre l'opacité du papier, là où sera formée la tache colorée, rend cette technique d'application assez difficile dans le cas de taches ayant migré.

Le procédé que nous décrivons ici se libère de ces longues mesures de blanc et s'applique ainsi à tous les cas de taches chromatographiques.

La vérification en a déjà été faite pour le cuivre et le zinc chromatographiés avec d'excellents résultats de reproductibilité.

Dans le cas du cobalt, la reproductibilité de ces dosages pour le complexe correspondant à des quantités de cobalt comprises entre 0,1 et 3 μg est supérieure à 1%.

Résumé

On a mis au point une technique nouvelle de mesure des concentrations des solutions de cobalt par spectrophotométrie ($\lambda = 850$ mμ) directe sur papier de son complexe coloré avec l'α-nitroso-β-naphtol. Cette technique est applicable aux taches chromatographiées avec une reproductibilité d'au moins 1% pour des concentrations comprises entre 0,1 et 3 μg. La technique préconisée peut être recommandée pour sa rapidité et sa reproductibilité qui dépassent ce qu'il est permis d'attendre en travaillant sur des solutions ou en photométrie en lumière blanche.

Zusammenfassung

Ein neues Verfahren der Konzentrationsbestimmung von Kobaltlösungen durch direkte Spektrophotometrie ($\lambda = 850$ mμ) auf Papier wird beschrieben. Es läßt sich auf Chromatogrammflecken von 0,1 bis 3 μg mit einer Reproduzierbarkeit von mindestens 1% anwenden. Das vorgeschlagene Verfahren empfiehlt sich wegen seiner raschen Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit, die besser sind, als man bei photometrischer Untersuchung von Lösungen im Weißlicht erwarten darf.

Summary

A new method has been developed for measuring concentrations of solutions of cobalt by spectrophotometry ($\lambda = 850$ mμ) directly on paper containing its colored complexes with α-nitroso-β-naphthol. This technique is applicable to chromatographic stains with a reproducibility of at least 1% for the concentrations between 0.1 and 3 μg. This technique may be recommended because of its rapidity and reproducibility which exceeds that to be expected when working with solutions or in photometry in white light.

Bibliographie

[1] *A. Lacourt* et *P. Heyndryckx*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 630.

[2] *A. Lacourt* et *P. Heyndryckx*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 62.

[3] *A. Lacourt* et *P. Heyndryckx*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1211.

[4] *A. Lacourt, G. Sommereyns* et *G. Wantier*, Analyst **77**, 943 (1952).

[5] *A. Lacourt, G. Sommereyns, J. Hoffmann, S. Frank-Frederic* et *G. Wantier*, Analyt. Chim. Acta **8**, 44 (1953); C. r. acad. sci., Paris **234**, 2365 (1952).

[6] *Y. Oka* et *M. Miyamoto*, Japan Analyst **2**, 322 (1953). *W. H. Shipman, S. C. Foti* et *W. Simon*, Analyt. Chemistry **27**, 1245 (1955). *H. R. Marston*, Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. **18**, 343 (1940).

[7] *H. C. Ehrmantraut* et *A. Weinstock*, Biochim. Biophys. Acta **15**, 389 (1954).

[8] *S. Verbeustel*, Mémoire de licence, Faculté des sciences U. L. B. Octobre **1955** (non publié).

[9] *P. Heyndryckx*, Communication non plubliée.

Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'Ecole nationale supérieure de Chimie. 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Etude des réactions de l'acétylformazyle et de ses dérivés avec les ions minéraux

Par

Mme **Thérèse Dupuis**

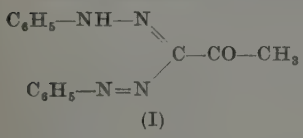
avec la collaboration technique de Mlle *Colette Wadier*

(Reçu le 16 février 1956)

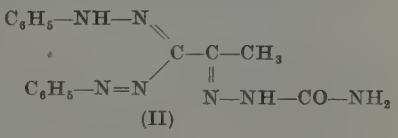
L'analogie de formule entre le formazyle et la dithizone et la présence du groupement CO dans son dérivé acétylé nous ont conduit à examiner ce dérivé cétonique (formule I) ainsi que quatre de ses dérivés caractéristiques:

la semicarbazone (formule II),
la thiosemicarbazone (formule III),
la dinitro-2,4 phénylhydrazone (formule IV),
l'oxime (formule V)

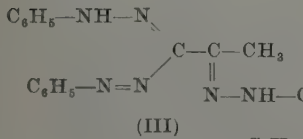
dans leur comportement vis-à-vis des ions minéraux. Nos prévisions se sont trouvées réalisées et, dès maintenant, nous pouvons dire que la thiosemicarbazone et l'oxime de l'acétylformazyle peuvent intervenir comme réactifs d'analyse qualitative et d'analyse quantitative.



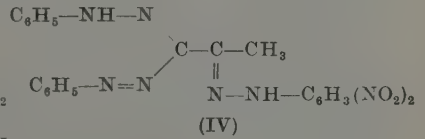
(I)



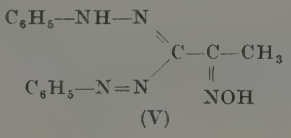
(II)



(III)



(IV)



(V)

Acétylformazyle. L'acétylformazyle, point de départ de ce travail a été préparé suivant la méthode de *Bamberger*[1]. C'est une poudre rouge insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et l'acétone en donnant une solution rouge foncé et dans les acides minéraux concentrés en donnant une solution bleue-violette. Elle fond à 134—135°.

Nous avons utilisé pour les essais une solution alcoolique saturée dans l'alcool éthylique puis diluée au $^1/_2$ avec le même alcool. De cette manière, le réactif ne reprécipite pas par addition d'un égal volume d'eau.

Nous avons examiné l'effet d'un tel réactif sur un grand nombre de sels minéraux en solution dans l'eau, sous forme de chlorures, de sulfates ou de nitrates. En tube, l'acétylformazyle fournit avec un sel de cuivre une coloration brune en milieu neutre et acide, et avec le chlorure de palladium une coloration vert émeraude qui apparaît après quelques minutes. Sur plaquette à touche, on observe les mêmes réactions avec formation plus ou moins rapide d'un précipité dû au réactif après évaporation de l'alcool.

En solution nitrique normale, le réactif reste en solution, mais aucune coloration caractéristique n'est observée avec les solutions des métaux suivants: Ag, Hg I et II, Co, Ni, Fe II et III, Cd, Zn, Pb, Mn, en dehors de la teinte violacée due à la présence de l'acide nitrique.

D'une façon générale, les réactions de coloration observées avec l'acétylformazyle sont trop peu sensibles pour être utilisées en microanalyse.

Semicarbazone de l'acétylformazyle. Ce dérivé fond à 198°; c'est également une poudre rouge insoluble dans l'eau et très peu soluble dans l'alcool. De plus, il est instable en milieu acide. En solution neutre, il donne avec un sel d'argent un précipité rouge grenat. Avec les solutions de sels de mercure légèrement acides, il fournit une coloration rose intense. Ces réactions sont cependant très peu sensibles.

Thiosemicarbazone de l'acétylformazyle. C'est une poudre cristalline rouge foncé, peu soluble dans l'alcool et l'acétone (80 mg dans 100 ml d'alcool à 96%); elle est plus soluble dans le chloroforme et l'éther. D'autre part, elle se dissout en bleu-violet dans les acides minéraux concentrés.

Le réactif utilisé dans cette étude est une solution saturée dans l'alcool éthylique. Il fournit en particulier avec les solutions des sels d'argent et de mercure un précipité rouge tomate. Cependant, divers essais ont montré que ces précipités ne se prêtent pas au dosage quantitatif de ces deux métaux. Avec un sel d'argent, il se forme un précipité gélatineux, filtrant mal et non quantitatif. Avec un sel de mercure, les différents essais mettent en évidence une redissolution partielle du précipité après sa formation. En vue de la recherche qualitative du mercure, au contraire,

le réactif s'est montré plus intéressant à cause de la sensibilité de la réaction. Les meilleures conditions d'acidité pour la netteté de la réaction correspondent à une solution de nitrate de mercure normale en acide nitrique. Pour la recherche de la limite de perceptibilité, nous avons effectué les dilutions successives avec de l'acide nitrique deux fois normal. Cette limite est atteinte pour une solution contenant 0,0495 μg de mercure par goutte en solution nitrique normale. Le pD de la réaction effectuée sur plaquette à touche est de 5,9.

Le mode opératoire utilisé est le suivant: dans un godet de la plaquette, on dépose une goutte de la solution d'essai, une goutte d'acide nitrique 4 N et 1 à 2 gouttes de réactif en solution alcoolique saturée. Le précipité rouge qui apparaît presque immédiatement se groupe sur les bords du liquide, coloré en rose par le réactif. Il faut effectuer en même un essai à blanc avec l'acide 4 N.

Influence des autres métaux.

Les sels d'argent donnent la même réaction, mais on peut facilement séparer l'argent avant la recherche du mercure. Pour cela, on ajoute de l'eau de brome à la solution, filtre le bromure d'argent formé et il suffit de chauffer la solution pour chasser l'excès de brome. On peut ensuite effectuer la réaction comme précédemment.

Le fer, en milieu nitrique, donne un précipité brun-jaune qui gêne la recherche du mercure. Le cuivre donne une coloration violette qui ne trouble pas la recherche du mercure (en présence de 100 fois son poids de cuivre, la limite de perceptibilité pour le mercure n'est pas modifiée). De même, le cobalt donne une coloration bleue qui ne gêne pas la précipitation du mercure.

L'or et le palladium, en milieu nitrique, donnent un précipité rose vif en milieu acide analogue à celui de mercure.

Le platine sous forme d'acide platichlorhydrique donne une coloration rose en milieu acide qui ne gêne pas la recherche du mercure.

Les métaux suivants ne donnent aucune réaction: chrome, manganèse, zinc, plomb, cadmium, magnésium, aluminium, bismuth, fer II, gallium, indium, béryllium, thallium, cérium, titane, thorium, uranium, alcalino-terreux. Le sulfate cérique décolore le réactif, mais n'empêche pas la recherche du mercure.

Parmi les anions, certains donnent des précipités avec le réactif: ce sont les molybdates (brun-rose), les tungstates (gris-bleu), les vanadates (rose), les sélénites (rose). De toute manière, ces précipités ne peuvent pas se produire lors de la recherche du mercure puisque ces anions forment des sels peu solubles avec le métal. Les anions suivants ne donnent lieu à aucune réaction: antimoniates, tellurates, chromites, borates, silicates, nitrates, fluorures. Les bromates, chlorates, et iodates décolorent le réactif à la longue.

Dinitro-2,4 phénylhydrazone de l'acétylformazyle. Ce dérivé se présente sous forme d'une poudre amorphe rouge foncé, très peu soluble dans l'alcool, soluble dans l'acétone. On observe peu de réactions avec les solutions de sels minéraux et une solution acétonique ou alcoolique de ce composé. On note seulement une intensification de la couleur jaune des solutions de chlorure d'or, de palladium et de fer III. Les métaux suivants ne donnent lieu à aucune réaction colorée: argent, mercure, cuivre, cadmium, bismuth, chrome, uranium VI, platine, plomb, aluminium, manganèse.

Oxime de l'acétylformazyle. Ce réactif cristallise sous forme d'aiguilles rouges, lentement solubles dans l'alcool en donnant une solution orangée. Son point de fusion est 203°.

Nous avons utilisé dans tous les essais une solution alcoolique saturée, puis diluée au $^1/_2$ avec de l'alcool. Cette solution ne précipite pas lorsqu'on lui ajoute un égal volume d'eau.

L'oxime s'est montrée un réactif intéressant pour les solutions des sels minéraux; sa solution alcoolique réagit principalement avec les sels de palladium, de cuivre et de nickel. Avec une solution acide de chlorure de palladium (p_H: 1), le réactif donne un précipité bleu-ardoise, soluble dans le méthanol, l'acétone et le chloroforme en donnant une solution bleue.

En milieu neutre et alcalin, le réactif produit dans les solutions des sels de cuivre un précipité violet vif, très sensible. Ce précipité est très peu soluble dans le chloroforme mais soluble dans l'acétone en donnant une solution violette.

Enfin, en milieu neutre et ammoniacal, les sels de nickel montrent en présence de réactif une coloration rose violette surtout nette en milieu franchement ammoniacal. Cette coloration disparaît complètement en présence d'acide acétique. On observe encore un changement de couleur du réactif de l'orangé au rouge groseille avec les sels de mercure (p_H: 2 à 3), une coloration rose framboise avec les sels de platine et une coloration jaune clair avec les sels d'or (p_H: 2 à 3).

Ces différentes réactions ont permis d'établir un procédé de recherche du palladium en présence des autres métaux et du cuivre en présence, soit de palladium, soit de nickel et des autres métaux. Seule la présence simultanée du nickel et du palladium empêche la recherche du cuivre.

Recherche du palladium. L'addition de quelques gouttes de réactif dans un tube contenant une solution chlorhydrique de chlorure de palladium provoque l'apparition d'une coloration, puis d'un précipité allant du vert au violet suivant la quantité de réactif en excès. Le précipité qui se dépose après quelques minutes est plus facile à observer sur plaquette à touche. Sur plaquette en effet, l'alcool du réactif s'évapore et le précipité

se concentre au fond du godet. En opérant avec des solutions de p_H variant de 0 à 7, on constate que les meilleures conditions pour former le précipité sont obtenues pour une concentration N/10 en acide chlorhydrique. La coloration bleue est encore nettement visible pour une solution de p_H 1. Pour une acidité supérieure à 1, l'acide décolore le réactif en donnant une teinte brune-violacée qui rend la réaction douteuse. Pour une acidité plus faible, au contraire, le palladium donne encore une réaction colorée nette à p_H 4. En milieu de p_H 7, aucune réaction n'est plus visible, ce qui rend possible la recherche du cuivre en présence de palladium.

Le mode opératoire pour la recherche du palladium est le suivant: dans un godet de la plaquette à touche, on dépose une goutte de réactif, une goutte d'acide acétique à 5% et une goutte de l'essai dont le p_H est compris entre 1 et 3. Dans un autre godet, on remplace la goutte d'essai par une goutte d'acide chlorhydrique N/10. Il apparaît en présence de palladium une coloration bleue très facile à distinguer à coté du témoin coloré en rose vif. La présence de l'acide acétique empêche le réactif de précipiter sur les bords de la goutte et rend la comparaison plus facile.

La limite de perceptibilité sur plaquette est 0,08 μg par goutte. Le pD de la réaction est égal à 5,58. Sur papier, la réaction est moins sensible; la limite de perceptibilité n'est que de 0,16 μg par goutte. Il faut imprégner le papier avec du réactif, laisser sécher quelques instants, puis ajouter la goutte d'essai pour observer une réaction nette. Il faut attendre quelques minutes pour comparer avec le témoin lorsqu'on approche de la limite.

Les métaux qui donnent une réaction colorée en milieu acide avec le réactif sont l'or, le platine et le mercure. Les colorations rouge groseille dues au mercure et jaune clair dues à l'or ne gênent pas la recherche du palladium; la coloration donnée avec le mercure pâlit après quelques minutes. Seule la présence de grandes quantités de platine diminue la sensibilité de la réaction du palladium.

Recherche du cuivre. Le réactif ajouté dans un tube contenant une solution neutre d'un sel de cuivre provoque l'apparition immédiate d'un précipité violet soutenu qui se dépose rapidement au fond du tube. Sur papier à touche, on observe de même une tache violette bien délimitée. La tache est d'ailleurs plus visible en ajoutant d'abord la goutte de solution de cuivre, puis une à deux gouttes de réactif. Ce précipité violet ne se forme que pour des solutions de sel de cuivre de p_H supérieur à 3. L'addition d'ammoniaque ne provoque aucun changement de coloration.

Pour rechercher le cuivre, on recommande le mode opératoire suivant: au centre d'un papier à touche, on dépose une goutte de la solution à

analyser neutre ou faiblement acide, puis une à deux gouttes du réactif alcoolique. Il apparaît immédiatement une tache ronde, qui se détache en violet sur le fond orangé du papier.

La limite de perceptibilité est de 0,05 μg par goutte et le pD de la réaction est égal à 5,78. Il est le même sur papier et sur plaquette à touche.

Présence des autres métaux: En solution neutre ou alcaline, seul le nickel donne lieu à une coloration pouvant gêner la recherche du cuivre. Sur papier, une goutte d'essai contenant du nickel fournit une coloration rose-violette qui se répand sur toute la surface de la tache. Cette coloration disparaît entièrement dès qu'on lave la tache dans un verre de montre contenant de l'acide acétique. Avec la tache due au cuivre, au contraire, la coloration violette subsiste au centre du papier et se détache sur le fond rose du réactif. En présence de 100 fois plus de nickel que de cuivre, la recherche du cuivre peut s'effectuer sans modification de la limite de perceptibilité. Pour effectuer la recherche du cuivre en présence de nickel, il suffit de laver la tache obtenue dans l'acide acétique à 30%; l'interférence due au nickel disparaît. Cependant, cette recherche ne peut s'effectuer que si la solution étudiée ne contient pas en même temps du palladium qui apparaîtrait alors sous l'action de l'acide acétique. Il est facile de s'en assurer en recherchant ce métal en milieu nettement acide (voir plus haut).

Cependant, en l'absence de nickel, la recherche du cuivre peut s'effectuer en présence de palladium vers p_H 7. Une quantité 100 fois plus grande de palladium ne gêne pas la recherche du cuivre dans ces conditions.

Les autres métaux qui donnent des colorations avec le réactif en milieu acide ne gênent pas non plus pour la recherche du cuivre en solution neutre.

En résumé, l'oxime de l'acétylformazyle en solution alcoolique constitue un excellent réactif pour la recherche du cuivre, puisqu'il permet la recherche de ce métal en présence de presque tous les autres métaux par une technique rapide et sensible.

Nous remercions vivement M. *Nguyen Dat Xuong* qui s'est chargé de préparer les dérivés organiques utilisés dans cette étude et Mlle *Colette Wadier* qui nous a apporté une aide efficace au cours de ce travail.

Résumé

L'étude systématique de l'acétylformazyle et de ses dérivés pour l'analyse à la touche à fourni des réactions sensibles permettant la recherche du mercure avec la thiosemicarbazone, du cuivre et du palladium avec l'oxime.

Zusammenfassung

Die systematische Untersuchung von Acetylformazyl und seinen Derivaten für die Zwecke der Tüpfelanalyse führte zu empfindlichen Reaktionen zur Prüfung auf Quecksilber mit dem Thiosemicarbazon, auf Kupfer und Palladium mit dem Oxim.

Summary

The systematic study of acetylformazyl and its derivatives for spot test analysis has yielded sensitive reactions which permit the detection of mercury by means of the thiosemicarbazone, and of copper and palladium with the oxime.

Bibliographie

[1] *E. Bamberger*, Ber. dtsch. chem. Ges. **24**, 3262 (1891).

Aus dem II. Chemischen Universitätslaboratorium in Wien

Schnellbestimmung des Urans in Meer- und Flußwässern

Von

J. Korkisch, A. Thiard und **F. Hecht**

Mit 1 Abbildung

(Eingelangt am 28. März 1956)

In Fortführung der von uns entwickelten Methode zur Bestimmung von Mikrogrammengen Uran in Gesteinen und Wässern[1], nach der das Uran nach einmaliger Ätherextraktion[2] und anschließendem Ionenaustausch unter Verwendung des stark basischen Anionenaustauschers Amberlite I. R. A.-400 (Ac^-) von allen die polarographische Endbestimmung des Urans störenden Fremdionen abgetrennt werden kann, war es das Ziel vorliegender Arbeit, Ionenaustauschverfahren zu entwickeln, die es gestatten, das Uran in Meer- und Flußwässern ohne vorangehendes Eindampfen der Wasserproben und unter Vermeidung jeglicher Ätherextraktion unmittelbar nach Durchführung einer einzigen Säulenoperation der polarographischen Messung zugänglich zu machen.

Die Trennung des Urans von den im Meerwasser vorkommenden Elementen kann auf einfache Weise über die Chloridkomplexe im p_H-Bereich von 3 bis 9 mittels des stark basischen Anionenaustauschers Amberlite I. R. A.-400 (Cl^-) erfolgen. Das Uranylion bildet in diesem p_H-Bereich einen negativ geladenen Chloridkomplex, der bei Anwesenheit der im Meerwasser enthaltenen großen Mengen an Natriumchlorid vom Austauscher quantitativ festgehalten wird, wogegen fast alle anderen in Frage kommenden Elemente ins Eluat übergehen. Durch anschließende Behandlung des Austauschers mit einer Pufferlösung (Salzsäure-Natriumacetat) vom $p_H = 5{,}0$ wird einerseits der Uranylchloridkomplex in den ebenfalls negativ geladenen Acetatkomplex umgewandelt und anderseits werden derart die noch auf der Säule verbliebenen Fremdionen und Neutralsalze weitgehend entfernt. Nach anschließendem Waschen der Säule mit dest. Wasser und darauffolgender Elution des Urans mit 0,8-n Salzsäure befinden sich im Eluat neben dem Uran nur Essigsäure

sowie äußerst geringe Mengen (Spuren) an Phosphorsäure und Eisen, die die polarographische Endbestimmung des Urans nicht wesentlich zu stören vermögen.

Aus Flußwässern ist das Uran im p_H-Bereich von 4,25 bis 5,25 aus stark acetathaltiger Lösung — unter Verwendung desselben Austauschers in der Acetatform — isolierbar. Dieses Anreicherungsverfahren stellt, wie aus der Arbeitsvorschrift ersichtlich, lediglich eine Erweiterung des Anwendungsbereiches der von uns oben erwähnten und kürzlich mitgeteilten Methode dar[1].

Aus schwefelsaurer Lösung wird Uran mit Hilfe von Amberlite I. R. A.-400 angereichert[3]. Hinweise auf Urananreicherung mit Dowex-Kationen- und Anionenaustauschern finden sich an anderer Stelle[4], doch entsprechen die dort angegebenen Bedingungen nicht den von uns angewandten.

Gegenwärtig sind Versuche im Gange, deren Ziel es ist, das in Mineralen enthaltene Uran nach Entfernung der Kieselsäure mittels einer einzigen Säulenoperation von allen die polarographische Endbestimmung des Urans störenden Fremdionen abzutrennen.

I. Lösungen und Reagenzien

1. *Ionenaustauscher:* Der stark basische Anionenaustauscher Amberlite I. R. A.-400 (0,1 bis 0,3 mm; Cl^-) wurde bis zur fast vollkommenen Entfernung des darin enthaltenen Eisens wie üblich[5] gereinigt und anschließend mit dest. Wasser gewaschen.

2. *Uran-Standardlösungen:* Einer mit 8-Hydroxychinolin gestellten, stark salpetersauren Uranylnitratlösung, die 2,170 mg Uran/ml enthielt, wurden 10 ml entnommen und mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt; 1 ml $\equiv$ 217 μg Uran. 3 ml dieser Lösung wurden in einer Quarzschale eingedampft und der Rückstand mit 250 ml 0,01-n Salpetersäure p. a. aufgenommen: 1 ml $\equiv$ 2,60 μg Uran.

3. *„Künstliches Meerwasser":* Es wurden 10 l „künstliches Meerwasser" folgender Zusammensetzung aus p. a.-Reagenzien und 10 l dest. Wasser hergestellt (Tabellen 1 und 2).

Tabelle 1. Hauptbestandteile (35‰ Salzgehalt, 19,34‰ Cl^-)

Kationen	g/l	Anionen	g/l
Natrium	10,75	Chlor	19,34
Kalium	0,40	Brom	0,06
Magnesium	1,30	Sulfat	2,70
Calcium	0,40	Bicarbonat	0,14
Strontium	0,01	Borsäure	0,02

Tabelle 2

Spurenelemente (µg/l)			
Fluor	1400	Molybdän	0,7
Silicium	1000	Cer	0,4
Stickstoff (NO_3^-)	1000	Thorium	0,4
Aluminium	120	Vanadin	0,3
Phosphor	60	Nickel	0,1
Eisen	50	Quecksilber	0,03
Jod	50	Gold	0,004
Arsen	15	Titan	9
Kupfer	5	Chrom	2,5
Mangan	5	Kobalt	0,1
Zink	5	Zinn	5

Die in obigen Tabellen angeführten Konzentrationen wurden den von *Kalle*[6] (Deutsche Seewarte, Hamburg) angegebenen weitgehend nachgebildet. Dabei wurde einerseits auf die Zugabe von Elementen wie z. B. Rb, Cs, Ba usw. verzichtet, anderseits wurden die in der Originaltabelle nicht angeführten Spurenelemente Ti(IV), Cr(III), Co(II) und Sn(IV) hinzugefügt, da sie bei etwaiger Nichtabtrennung analog dem Uran infolge der bei ihnen möglichen Wertigkeitsänderungen katalytische Wellen liefern, und damit die polarographische Bestimmung des Urans stören könnten. Der elektrometrisch bestimmte p_H-Wert des „künstlichen Seewassers" betrug 7,2. Vor seiner Verwendung wurde es filtriert.

4. *Natriumchloridlösung:* 28 g Natriumchlorid p. a. (entsprechend dessen mittlerer Konzentration im Meerwasser) wurden in 1 l dest. Wasser gelöst und die Lösung filtriert.

5. *Pufferlösung vom* $p_H = 5{,}0$*:* 500 ml 0,1-n Salzsäure und 300 ml 1-m Natriumacetatlösung wurden mit dest. Wasser auf 1 l aufgefüllt[1].

6. *Eisessig p. a.*

7. *5-n Natriumhydroxydlösung:* Sie wurde durch Lösen von 200 g Natriumhydroxyd p. a. zu 1 l in dest. Wasser hergestellt.

8. *0,1-, 0,5-, 0,8-, 1,0-n und konz. Salzsäure.*

II. Apparatur

Bei allen folgenden Versuchen wurde eine Säule folgender Dimensionen verwendet:

Durchmesser des Harzbettes .. 8 mm,
Länge des Harzbettes ..... 12 cm.

Der Form und Ausführung nach stellte diese Ionenaustauschersäule im wesentlichen eine Vergrößerung der von uns früher[1] (auf S. 1289, Abb. 2) beschriebenen Mikrosäule dar.

III. Meerwasser

1. Einfluß des p_H bei der Sorption

Die Säule wurde zur Entfernung der letzten Spuren Eisen mit 30 ml 1-n und 20 ml 0,1-n Salzsäure gewaschen. Anschließend wurde durch das Harzbett solange dest. Wasser fließen gelassen, bis das Eluat neutral reagierte. Hierauf wurde das Harz mit 20 ml der Natriumchloridlösung behandelt. Sodann wurde eine Lösung, bestehend aus 100 ml filtriertem künstlichem Meerwasser, dem 1 ml der Uran-Standardlösung (das ist 2,6 μg Uran) zugegeben wurden, mit einer Geschwindigkeit von 0,5 ml/min durch die Säule fließen gelassen. Die Lösung zeigte ein p_H von 7,0. Anschließend wurde die Säule mit 50 ml der Pufferlösung vom $p_H = 5{,}0$ und hierauf mit 50 ml dest. Wasser gewaschen. Das Uran wurde dann mit 50 ml 0,8-n Salzsäure eluiert und im Eluat polarographisch bestimmt. Bei diesem und anderen bei den p_H-Werten 3, 4, 5, 6, 8 und 9 analog durchgeführten Versuchen wurde das Uran mit einem maximalen Fehler von $\pm$ 10% quantitativ wiedergefunden. Vom p_H-Wert 1 aufwärts wurde, wie Abb. 1 zeigt, mit zunehmendem p_H-Wert anfänglich immer mehr Uran adsorbiert. Zur Einstellung der gewünschten Wasserstoffionenkonzentrationen wurden zu den jeweils für einen Versuch verwendeten 100 ml künstlichem Seewasser nach Zugabe von 1 ml der Uran-Standardlösung entweder 0,1-n Salzsäure oder 0,1-n Natronlauge zugesetzt und die p_H-Werte mit einer Glaselektrode gemessen.

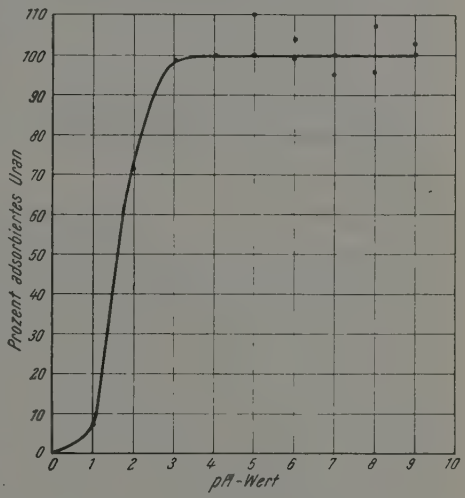


Abb. 1

2. Einfluß der Salzsäurekonzentration bei der Elution

Da bei der der Sorption folgenden Umwandlung der Chlorid- in die Acetatkomplexe („Fixierung des Urans") mittels der Pufferlösung vom $p_H = 5{,}0$ das Uran als negativ geladener Acetatkomplex auftritt, liegen hier dieselben Elutionsbedingungen, wie sie bereits mitgeteilt wurden[1],

vor. Das Uran ließ sich auch hier mit 50 ml 0,5-, 0,8- und 1,0-n Salzsäure quantitativ eluieren.

3. Die Durchbruchkapazität der Ionenaustauschersäule

Eine Ermittlung der Durchbruchkapazität der verwendeten Austauschersäule war nicht notwendig, da die Urankonzentration von 2,6 μg Uran/100 ml, die von uns für die unter 1., 2. und 4. angeführten Versuche gewählt worden war, bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 0,5 ml/min sicher die oberste Grenze der in 1 l Meerwasser zu erwartenden Urankonzentration von höchstens 3 bis 4 μg Uran/l überschreitet, selbst wenn die Durchflußgeschwindigkeit der aus 1 l Meerwasser bestehenden Analysenprobe 3 ml/min beträgt. Umgerechnet auf eine Fließgeschwindigkeit von 3 ml/min könnte die Meerwasserprobe daher etwa 4,3 μg Uran/l enthalten, ohne daß die Durchbruchkapazität der Säule überschritten wird.

4. Ermittlung der die polarographische Endbestimmung des Urans störenden Fremdionen

Zu je 100 ml der Natriumchloridlösung wurde nach Zusatz von 1 ml der Uran-Standardlösung (das ist 2,6 μg Uran/ml) jeweils ein anderes Kation oder Anion der in Tabelle 1 und 2 angeführten Elemente entsprechend ihrer im Meerwasser zu erwartenden Menge zugesetzt, der p_H-Wert auf 7 eingestellt und wie unter 1. angegeben die Säulenoperationen durchgeführt. Nur bei jenem Versuch, bei dem Phosphat neben Natriumchlorid vorhanden war, trat eine Störung der katalytischen Uranwelle durch teilweise Maskierung des Urans ein. Diese beeinträchtigt ein wenig die Auswertung der Welle, so daß die im Meerwasser immer anwesende Phosphorsäure die Uranbestimmung mit einem Auswertungsfehler von $\pm$ 10% behaftet. Die Störung durch Eisen war bedeutend geringer und lag innerhalb der Fehlergrenze der polarographischen Methode. Alle anderen im Meerwasser zu erwartenden Elemente waren quantitativ abtrennbar, bzw. störten die polarographische Uranbestimmung nicht.

5. Arbeitsvorschrift

a) *Vorbehandlung des Harzbettes*

Das Harzbett wird zur vollkommenen Entfernung der letzten Spuren Eisen mit 50 ml 1-n und 20 ml 0,1-n Salzsäure und anschließend bis zur neutralen Reaktion des Eluats mit rund 100 ml dest. Wasser gewaschen. Hierauf wird die Säule mit 50 ml der Natriumchloridlösung behandelt.

b) *Sorptionsvorgang*

Die filtrierte und auf einen p_H-Wert im Bereich von 3 bis 9 eingestellte, 1 l oder weniger betragende Meerwasserprobe wird dann mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/min durch die Säule fließen gelassen.

c) *Waschen des Harzbettes*

Die Säule wird hierauf mit 100 ml der Pufferlösung vom $p_H = 5{,}0$ und anschließend mit 100 ml dest. Wasser gewaschen.

d) *Elution des Urans*

Sodann wird das Uran mit 50 ml 0,8-n Salzsäure bei einer Geschwindigkeit von 1 ml/min in einen Meßkolben eluiert.

e) *Quantitative Bestimmung des Urans*

Ein aliquoter Teil oder das gesamte, 50 ml betragende Eluat wird nunmehr in einer Quarzschale auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, das Uran mit 10 ml 0,01-n Salpetersäure aufgenommen und polarographisch bestimmt[1].

Zur Durchführung einer Analyse von 1 l Meerwasser sind nicht mehr als 8 Stunden erforderlich, was gegenüber der auf Eindampf- und Extraktionsbasis beruhenden Methode[2] den großen Vorteil der Zeitersparnis und des bedeutend geringeren apparativen Aufwandes bei gleicher Genauigkeit bedeutet.

Im Konzentrationsbereich von 1 μg Uran/l aufwärts beträgt der Auswertungsfehler $\pm$ 10%; unter 1 μg/l ist mit einem Fehler von $\pm$ 20% zu rechnen. Bei weniger als 1 μg/l ist es daher angezeigt, eine zweite Säulenoperation über die Acetatkomplexe unter Verwendung einer Mikrosäule durchzuführen[1].

IV. Flußwässer

Aus Süßwasser ist infolge seines im Vergleich zum Meerwasser sehr geringen Salzgehaltes eine Isolierung des Urans nach der unter 5. gebrachten Arbeitsvorschrift nicht unmittelbar möglich, sondern erst nach Zusatz eines geeigneten Komplexbildners wie z. B. Acetat- oder Chloridion. Acetat ist hier vorzuziehen, da die Flußwässer einen bedeutend größeren Eisengehalt als das Meerwasser aufweisen. Eisen bildet in stark acetathaltiger Lösung im p_H-Bereich von 4,25 bis 5,25 einen positiven, das Uran dagegen einen negativ geladenen Acetatkomplex[1], wodurch eine Trennung des Urans vom Eisen, soweit dieses nicht als negativ geladener Phosphatkomplex vorliegt, erfolgt. Bezüglich des Einflusses des p_H bei der Sorption sind dieselben Faktoren maßgebend, wie sie von uns schon in der kürzlich veröffentlichten Arbeit über eine Bestimmung des Urans in Gesteinen und Wässern mitgeteilt worden sind[1]. Analoges gilt für den Einfluß der Salzsäurekonzentration bei der Elution. Die nach der folgenden Arbeitsvorschrift ermittelte Durchbruchkapazität der verwendeten Austauschersäule betrug bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 3 ml/min 50 μg Uran/l. Ist mit einer höheren Urankonzentration zu rechnen, so muß die Geschwindigkeit entsprechend vermindert werden. Als die polarographische Endbestimmung des Urans störende Fremdionen

kommen wie beim Meerwasser auch hier Spuren Phosphorsäure und Eisen in Betracht. Der von ihnen hervorgerufene Auswertungsfehler der katalytischen Uranwelle beträgt im Konzentrationsbereich über 1 μg Uran/l $\pm$ 10%. Dieser Fehler kann natürlich, wenn nur 0,5 l oder noch weniger der Wasserprobe der Säulenoperation unterworfen werden, bis zu $\pm$ 20% erreichen. Unterhalb von 1 μg Uran/l beträgt der Auswertungsfehler $\pm$ 20%, wenn 1 l der Wasserprobe zur Analyse verwendet wird. Bei einer Probemenge von z. B. nur 500 ml des zu analysierenden Wassers kann er, wie aus Tabelle 3 ersichtlich, bis zu $\pm$ 27% betragen.

Arbeitsvorschrift

a) *Vorbehandlung des Harzbettes*

Das mit 50 ml 1-n und 20 ml 0,1-n Salzsäure vollständig eisenfrei gewaschene Harzbett wird mit 50 ml der Pufferlösung vom $p_H = 5{,}0$ in die Acetatform übergeführt.

b) *Sorptionsvorgang*

Die mit 5 ml konz. Salzsäure angesäuerte, 1 l oder weniger betragende Wasserprobe* wird durch ein Weißbandfilter filtriert, mit 20 ml Eisessig versetzt und dann mit 5-n Natriumhydroxydlösung auf einen p_H-Wert im p_H-Bereich von 4,25 bis 5,25 gebracht. Die Lösung wird hierauf mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/min durch die Säule fließen gelassen.

c) *Waschen des Harzbettes*

Die Säule wird mit 100 ml der Pufferlösung ($p_H = 5{,}0$) und anschließend mit 100 ml dest. Wasser gewaschen.

d) *Elution des Urans*

Das Uran wird dann mit 50 ml 0,8-n Salzsäure eluiert. Wird in der verwendeten Wasserprobe ein relativ hoher Urangehalt vermutet, so ist die Elution mit weiteren 50 ml 0,8-n Salzsäure fortzusetzen.

e) *Quantitative Bestimmung des Urans*

Sie wird analog zu III 5 e durchgeführt.

Die Dauer einer derartigen Urananalyse beträgt wie im Fall der unter III 5 beschriebenen Meerwasseranalyse bei Verwendung von 1 l Probelösung rund 8 Stunden. Nach dieser Arbeitsvorschrift läßt sich auch der Urangehalt des Meerwassers bestimmen. Zur Überprüfung obiger Methode wurden sieben Wasseranalysen durchgeführt. Parallel dazu wurde zur Kontrolle in denselben Wässern nach einmaliger Ätherextraktion[2] und darauffolgendem Ionenaustausch[1] das Uran bestimmt. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, besteht gute Übereinstimmung zwischen den so auf zwei verschiedenen Wegen ermittelten Werten.

* Es ist ratsam, die angesäuerte Probe solange stehen zu lassen, bis in ihr keine Gasblasen mehr feststellbar sind.

Tabelle 3

Wasserprobe Nr.	Anzahl der zur Analyse verwendeten Liter der Wasserprobe	Ätherextraktion mit darauffolgendem Ionenaustausch* gefunden µg Uran/l	Nach unserer Arbeitsvorschrift gefunden µg Uran/l	Differenz in %
1**	1,0	0,48	0,38	—20
2***	0,1	1,56	1,56	± 0
3	0,1	1,84	1,86	+ 1
4	0,1	1,95	1,73	— 12
5	0,5	0,20	0,21	+ 5
6	0,5	0,33	0,42	+27
7	0,5	0,22	0,26	+18

* Wir danken Herrn Dr. *E. Tomic* für die Durchführung dieser Kontrollanalysen.

** Wiener Hochquellenleitungswasser.

*** Nr. 2 bis 7 schwedische Flußwasserproben.

Zusammenfassung

Es wurden zwei Methoden zur Schnellbestimmung des Urans in Meer- und Flußwässern ausgearbeitet. Nach diesen Verfahren kann das Uranylion ohne vorangehendes Eindampfen der Proben und unter Umgehung jeglicher Extraktion unmittelbar nach Durchführung einer einzigen Säulenoperation polarographisch bestimmt werden. Bei Meerwässern erfolgt die Anreicherung des Urans als negativ geladener Chlorid-, bei Flußwässern als negativer Uranylacetatkomplex, die vom stark basischen Anionenaustauscher Amberlite I. R. A.-400 (Cl^- bzw. Ac^-) quantitativ in den p_H-Bereichen 3 bis 9 bzw. 4,25 bis 5,25 festgehalten werden. Nach dem Waschen des Harzes mit einer Pufferlösung vom $p_H = 5{,}0$ (Salzsäure-Natriumacetat) und mit dest. Wasser läßt sich das Uran mit 0,8-n Salzsäure eluieren und polarographisch bestimmen. Innerhalb von 8 Stunden kann so der Urangehalt einer Wasserprobe von 1 l bei einer mittleren Genauigkeit von ± 10 bis 15% ermittelt werden.

Summary

Two methods have been developed for the rapid determination of uranium in sea- and river waters. By this procedure, the uranyl ion can be directly determined polarographically after a single column operation and without any preliminary evaporation of the samples and without any extraction of the samples. In the case of sea waters, the gathering of the uranium is in the form of negatively charged chloride-, with river waters as negative uranyl acetate complex, which are retained quantitatively in the pH ranges 3 to 9 or 4.25 to 5.25 respectively by the strongly basic anion exchange resin Amberlite I. R. A.-400 (Cl^- or Ac^-). After washing the resin with a buffer solution of pH = 5.0 (HCl + NaAc) and with distilled water, the uranium can be eluted with 0.8 *N* hydrochloric acid and determined polarographically. The uranium content of a 1 liter sample of water can be determined within 8 hours with a mean accuracy of ± 10 to 15%.

Résumé

Mise au point de deux méthodes de détermination rapide de l'uranium dans les eaux de mer et de rivière. Ces techniques permettent de doser l'ion uranyle par polarographie immédiatement après avoir effectué un unique passage sur colonne, sans concentration préalable par évaporation et en évitant toute extraction.

L'enrichissement en uranium est effectué sous forme de chlorure chargé négativement pour l'eau de mer et d'acétate d'uranyle complexe chargé négativement pour l'eau de rivière; ces composés sont en effet retenus quantitativement sur un échangeur d'anion fortement basique, l'Amberlite I. R. A. 400 (Cl^- ou $CH_3CO_2^-$), dans un domaine de pH de 3 à 9 dans le premier cas et de 4,25 à 5,25 dans le second. Après lavage de la résine avec une solution tampon de pH = 5,0 (acide chlorhydrique — acétate de sodium) puis avec de l'eau distillée, l'uranium est élué avec de l'acide chlorhydrique 0,8 N et dosé par polarographie. On peut ainsi déterminer en moins de 8 heures la teneur en uranium d'un échantillon d'eau de 1 litre avec une précision moyenne de $\pm$ 10 à 15%.

Literatur

[1] *F. Hecht, J. Korkisch, R. Patzak* und *A. Thiard*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1283.

[2] *E. Hahofer* und *F. Hecht*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 417.

[3] *S. Fisher* und *R. Kunin*, A/Conf. 8/P/818 (International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy).

[4] *E. K. Hyde*, A/Conf. 8/P/728 (International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy).

[5] *O. Samuelson*, Ion Exchangers in Analytical Chemistry. New York: Wiley; Stockholm: Almqvist & Wiksell. 1953. S. 95.

[6] *K. Kalle*, Der Stoffhaushalt des Meeres. Leipzig: Akad. Verl.-Ges. Becker & Erler. 1943. S. 38 und 40.

Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'Ecole nationale supérieure de Chimie de Paris. 11, Rue Pierre Curie, Paris 5e

Sur le noircissement des précipités de sels d'argent

(Petite communication)

Par

Clément Duval

Avec 1 Figure

(Reçu le 28 février 1956)

Il arrive souvent de voir un précipité de chlorure ou de bromure d'argent devenir violet ou noir en surface au moment de le peser. On recommande alors de reprendre ce précipité par une goutte d'acide nitrique pour *redissoudre l'argent éventuellement formé*. De plus, on a admis qu'au moment de l'exposition d'une plaque photographique, il

y avait perte d'halogène; on a même prétendu qu'il se formait un sous-chlorure ou un sous-bromure.

Nous avons voulu, à l'aide de la thermobalance, tirer ces questions au clair.

1ère Expérience. Au sommet du canal du four de la thermobalance, on dispose une ampoule de 40 watts donnant un rayonnement riche en ultraviolet, capable d'éclairer une couche de chlorure ou de bromure d'argent (avec ou sans gélatine, avec ou sans ammoniaque), préparée dans l'obscurité et disposée à 15 cm au-dessous dans le creuset fixé à la tige de silice de la thermobalance[1] et l'on enregistre dans un intervalle de 3 heures, le poids du creuset, la température variant entre 30 et 135°.

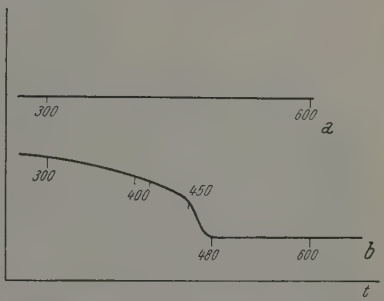


Fig. 1. Courbes de thermolyse du chlorure d'argent. (*a*) dans l'air, (*b*) dans l'hydrogène

Au bout de ce temps, le sel d'argent a noirci mais l'enregistrement continu n'accuse aucune perte de poids. Si cette perte existe réellement, elle est inférieure à $^1/_{1000}$.

2ème Expérience. Quand on chauffe dans l'air du chlorure ou du bromure d'argent en vase ouvert, leur poids ne change pas respectivement avant 600° et 946°. Au centre du four de la thermobalance, on dispose une gaîne de silice[2] au sommet de laquelle on envoie un courant d'hydrogène provenant d'une bombe, débarrassé d'oxygène sur du cuivre chaud et débarrassé de l'humidité dans un barboteur à acide sulfurique. On fait encore l'enregistrement continu avec la balance à plume, de la variation de poids d'une couche de 250 mg de chlorure ou de bromure d'argent régulièrement chauffé à raison de 350° par heure, l'acide chlorhydrique (ou bromhydrique) étant évacué avec l'hydrogène en excès. Cette fois, la perte de poids par réduction commence dès la température ordinaire mais ne devient importante qu'après 300° pour s'achever à 480°; après quoi, il n'y a plus que de l'argent dans le creuset. Les produits formés entre 300 et 480° et notamment à 450° ou l'on observe un changement de direction ont été examinés avec soin; il est visible, même à l'oeil, qu'il s'agit d'un mélange d'argent (entraînable par l'acide nitrique) et de sel d'argent inaltéré. La combinaison Ag_2Cl n'apparaît pas dans cette expérience.

Bibliographie

[1] *C. Duval*, Mikrochem. **35**, 248 (1950).

[2] *C. Duval*, Inorganic Thermogravimetric Analysis. Amsterdam: Elsevier. 1953. p. 26.

Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'Ecole nationale supérieure de Chimie de Paris. 11, Rue Pierre Curie, Paris 5e

Remarque sur la nature du bismuthate de sodium

(Petite communication)

Par

Clément Duval

(Reçu le 28 février 1956)

On utilise beaucoup comme agent d'oxydation en chimie analytique, un produit dénommé bismuthate de sodium et préparé par réaction à l'état solide entre l'oxyde de bismuth Bi_2O_3 et le peroxyde de sodium Na_2O_2.

Certains lui ont attribué la formule $NaBiO_3$ d'un métabismuthate, d'autres, la formule Na_3BiO_4 d'un orthobismuthate dans l'impossibilité de l'analyser correctement. Suivant la méthode indiquée dans une précédente communication[1], nous avons répété cette réaction en enregistrant sur la thermobalance à plume, la variation de poids de mélanges $Bi_2O_3 + + Na_2O_2$ et examiné entre 6 et 15 μ, le spectre d'absorption infrarouge des produits formés, sur le spectromètre Perkin-Elmer 12-C équipé au sel gemme. Dans cette région, les corps renfermant des groupements XO_3 et XO_4 comme les bromates et les orthophosphates donnent des bandes d'absorption qui nous sont bien connues.

Le produit formé, sans dégagement d'oxygène, est assurément un mélange comme on le voit au microscope. Dans la région infrarouge précitée, il ne présente comme bandes d'absorption que celles du carbonate de sodium Na_2CO_3 pour 868, 881 et une inflexion légère pour 900 cm^{-1}.

Le mélange oxydant nous paraît contenir l'oxyde Bi_2O_5, le carbonate Na_2CO_3 avec un excès variable (qui peut d'ailleurs être voisin de zéro) de peroxyde de sodium non utilisé qui s'est carbonaté au départ ou au cours de la manipulation.

L'agent actif du produit est surtout le peroxyde de bismuth.

Bibliographie

[1] *C. Duval* et *J. Lecomte*, Proceedings of the International Symposium on the reactivity of solids. Gothenburg 1952. p. 505.

Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'Ecole nationale supérieure de Chimie de Paris. 11, Rue Pierre Curie, Paris 5e

Sur le nettoyage des cathodes dorées

(Petite communication)

Par

Clément Duval

Avec 1 Figure

(Reçu le 28 février 1956)

Chacun connait la méthode de dosage électrolytique du mercure d'après *Verdino*[1] dans laquelle le métal est recueilli sur une cathode d'or ou de platine doré. Pour enlever le mercure après pesée, on indique généralement de chauffer la cathode légèrement sur un bec Bunsen. Cette pratique risque de déformer et d'altérer les objets d'or; il en est de même lorsque, par mégarde, le chimiste met un bijou d'or, une bague, par exemple, au contact du mercure.

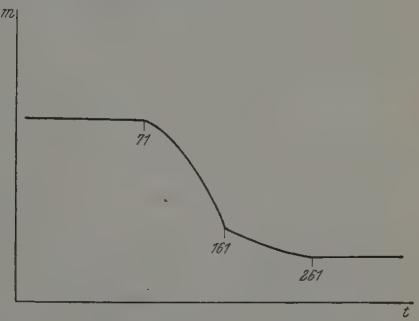


Fig. 1. Départ de mercure sur une cathode dorée

Pour éviter la déformation des objets d'or amalgamés, nous avons étudié le départ du mercure déposé en suivant la perte de poids par enregistrement graphique sur la thermobalance. Quelle que soit la forme de l'objet et l'épaisseur du dépôt, on observe toujours que le mercure commence à se dégager entre 69° et 71°, puis une brisure (Fig. 1) à 165° correspondant à un ralentissement dans l'évaporation. A 261°, l'or set complètement nettoyé et reprend son état initial. L'échauffement dure 45 minutes et se fait linéairement. Nous pensons donc que pour éviter la déformation des objets d'or amalgamés, il convient de les chauffer non pas sur flamme nue mais progressivement dans une étuve, sur un bain d'air ou mieux, dans un petit four électrique avec contrôle permanent de la température.

Bibliographie

[1] *A. Verdino*, Mikrochem. **6**, 5 (1928).

Aus dem Laboratorium für Mikrochemie des Institutes für organ. und pharmaz. Chemie der Universität Graz

Eine einfache Auftragpipette* für die Papierchromatographie

(Kurze Mitteilung)

Von

K. Holzer

Mit 1 Abbildung

(Eingelangt am 29. Februar 1956)

Zum Auftragen von Lösungen auf die Startpunkte des Chromatographierpapiers wurde eine in ganze und halbe μl geteilte, abgewinkelte Pipette (Abb. 1) für sehr zweckmäßig gefunden.

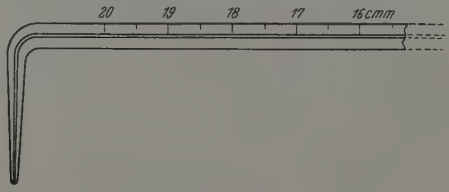


Abb. 1. Auftragpipette. Maßstab 1 : 1

Das Lumen der Kapillare der auf Ausguß geeichten Pipette soll so gehalten werden, daß ein Abstand von 0,5 bis 1 cm auf der Skala 1 μl entspricht. Bei einer Länge von 20 bis 25 cm der Pipette faßt diese 20 μl Lösung. Die nicht zu enge Ausflußöffnung der im rechten Winkel ausgezogenen Spitze soll plan geschliffen sein, um durch leichtes Aufdrücken einen guten Kontakt mit dem Papier zu erzielen. Nach Füllung durch Eintauchen der Pipettenspitze in die Lösung und Ansaugen am anderen Ende mit dem Munde wird auf die gewünschte Marke eingestellt, indem man die waagrecht oder leicht nach vorne geneigte Pipette mit der Spitze auf ein Stück Filtrierpapier aufsetzt und die überschüssige Substanzlösung absaugen läßt, bis die gewünschte Marke erreicht ist. Infolge der großen Reibung der geringen Flüssigkeitsmenge in der Kapillare besteht bei waagrechter oder nur wenig geneigter Haltung der Pipette keine Gefahr einer Verschiebung der Flüssigkeitssäule während des Auftragens.

* Zu beziehen bei Fa. Paul Haack, Wien IX, Garnisongasse 3.

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften

The Society for Analytical Chemistry

Annual General Meeting of the Society

The eighty-second Annual General Meeting of the Society was held on Wednesday, February 29th, 1956, in the Meeting Room of the Royal Society, Burlington House, London W. 1., with the President, Dr. *K. A. Williams*, B. Sc., F. R. I. C., A. Inst. P., M. Inst. Pet., in the Chair. The Financial Statement and the Report of the Council for the past year were submitted and approved. The membership of the Society at the date of the meeting was 1842, an increase of 43 compared with the corresponding figure last year. During the year the Society has held six Ordinary Meetings in London (three of which were organised by the Society's Subject Groups), and the first Joint Meeting with the Association of Public Analysts, in Cardiff. In addition, the Society's Sections and Groups held 37 meetings.

A Special Meeting was held on November 29th, 1955, at the Beveridge Hall, University of London, Senate House. Professor *J. Heyrovský*, D. Sc., Ph. D., an Honorary Member of the Society, gave a lecture entitled "*The Development of Polarographic Analysis*".

The following Officers and Members of Council were elected for the forthcoming year:

President: K. A. Williams.

Past Presidents serving on the Council: Lewis Eynon, D. W. Kent-Jones, J. R. Nicholls and *George Taylor.*

Vice-Presidents: D. C. Garratt, J. Haslam and *H. M. N. H. Irving.*

Honorary Treasurer: J. H. Hamence.

Honorary Secretary: N. L. Allport.

Honorary Assistant Secretary: R. E. Stuckey.

Other Members of Council: S. G. Burgess, R. C. Chirnside, C. H. R. Gentry, W. C. Johnson, D. D. Moir, T. McLachlan, R. F. Milton, Miss *Mamie Olliver, F. C. J. Poulton, S. A. Price, A. A. Smales* and *A. F. Williams.*

Ex-officio Members: J. R. Walmsley (Chairman of the North of England Section), *F. J. Elliott* (Chairman of the Scottish Section), *P. J. C. Haywood* (Chairman of the Western Section), *J. R. Leech* (Chairman of the Midlands Section), *G. F. Hodsman* (Chairman of the Microchemistry Group), *J. E. Page* (Chairman of the Physical Methods Group), *K. L. Smith* (Chairman of the Biological Methods Group).

The Annual General Meeting was followed immediately by the Bernard Dyer Memorial Lecture given by *Sir William Slater*, K. B. E., D. Sc., F. R. I. C.,

Secretary of Agricultural Research Council, entitled "*The Evolution of Agricultural Research*".

Sir William began by posing the question "What is agricultural research ?" Agriculture was not a science, it was an industry.

Consequently a worker in agricultural research had to combine the qualifications of a scientist with an understanding of farmers and their problems.

Although before the first World War only the Universities had provided a place for pure research, leaving consultant and applied practice as the main opening for scientists, the years between the Wars had seen the growth of Research Institutes in which pure investigations were possible as well as the development of practical applications. This and the ease with which published original research could be used to support personal advancement had let to a growing tendency for universities to encourage graduates to look to pure rather than to applied research for a career.

Since the second World War the scarcity of men entering applied research has had added to it the problem of providing apparatus — spectrophotometers, calculating machines and even electronic computors — required for specialised research. There were many problems to be solved in providing that such equipment was fully used. In agriculture there was also the problem of providing facilities for work on farm animals.

Sir William illustrated his theme by describing the advancement by pure research of the solution to the practical problem of weed control. From the pre-war practice of spraying onions with sulphuric acid, which ran off the narrow onion leaves but destroyed the flat leaves of the weeds with which it remained in contact, we had progressed to the use of the "plant hormone" type of weed killer, the substituted phenoxyacetic acid products. Radioactive-tracer techniques were now permitting this work to be taken a step further. The number and variety of scientific experts needed for agricultural research was continually increasing.

Nevertheless it was still necessary to have an intermediary who could explain to the farmer what the pure research worker had discovered in the laboratory and to help in the application of the knowledge on the farm. The National Agricultural Advisory Service had in its Specialist Advisory Officers men who could do this; they worked together with the District and County Officers.

These men were invaluable in bridging the gap between pure and applied research; but there were all too few of them. Unless there was a body of similar men based on the research institutes, this liaison might break down.

Looking into the future, *Sir William* said, we saw two groups working together in the agricultural research institutes, one going ever deeper into specialised investigations in the laboratory and the other devoting itself to the immediate solution of the applied problems of the industry and maintaining contact with the Advisory Service and the Farmers.

Ordinary Meeting of the Scottish Section

An Ordinary Meeting of the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7.15 p. m. on Thursday, March 22nd, 1956, at the Central Station Hotel, Glasgow. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *F. J. Elliot*, F. R. I. C., F. R. S. E., and the following papers were presented and discussed.

The Determination of Calcium in Plant Material by Flame Photometry, by *R. G. Hemingway*, M. Sc. (Agricultural Chemistry Department, University of Glasgow).

Owing to severe interference from even small amounts of phosphate the "EEL" flame photometer cannot be used to determine directly the calcium in plant-ash extracts. Phosphates have been separated from solution using a cation-exchange column and calcium is then determined after elution from the resin with 5 N nitric acid.

The method is free from interference from aluminium, iron, manganese, magnesium, and potassium at the concentrations usually found in plants. Sodium interferes to an extent of 1 per cent if present in concentration equivalent to that of calcium and this can be corrected for. The method gives results in close agreement with those obtained by an oxalate method and is both rapid and capable of use on large numbers of samples. Its accuracy as measured by repeated analysis of different plant samples is $\pm$ 2.2 per cent.

The Flame Photometer in Silicate Analysis, by *A. J. Shorter*, M. Sc., M. S., M. Inst. F., A. R. I. C. (Bonnybridge Silica & Fireclay Co. Ltd.).

1. The problem of alkali estimation, with special reference to silicate analysis.

2. Outline of the Lawrence Smith "classical" technique with a short discussion of its merits and disadvantages.

3. Principles of quantitative flame photometry. Some account of different flame photometers.

4. Experience with the "EEL" instrument in analysis of refractory materials.

(Routine procedures and precautions, chemical interferences, scope, accuracy, and reproducibility.)

A New System of Reporting and Recording Analytical Results, by *A. O. Pearson*, B. Sc., F. R. I. C. (Imperial Chemical Industries Ltd., Dyestuffs Division, Grangemouth, Stirlingshire.)

A new system of reporting and recording analytical results has been adopted in a section of an Analytical Department dealing with routine analysis (about 400 samples a week). The system is based on the use of pre-printed forms by the laboratory assistants from which the results are transferred on to a pre-printed paper master. This serves as a negative from which a positive paper copy is obtained in less than 40 seconds by the simple photocopying process. The system has effected considerable saving in writing, typing and filing and has improved the format of permanent records.

An "Azoflex" photocopying machine was demonstrated by courtesy of Messrs. Ilford Ltd.

Ordinary Meeting of the North of England Section

An Ordinary Meeting of the North of England Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 2.15 p. m. on Saturday, 24th March, 1956, at the City Laboratories, Mount Pleasant, Liverpool 3. The chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *J. R. Walmsley*, A. M. C. T., F. R. I. C., F. P. S.

A paper on "*New Reagents and New Developements in the Fine Chemical Field*" was given by *W. C. Johnson*, M. B. E., F. R. I. C.

Ordinary Meeting of the Society

An Ordinary Meeting of the Society was held at 7 p. m. on Wednesday, April 4th, 1956, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London, W. 1. In the absence of the President, the Chair was taken by Dr. *D. W. Kent-Jones*, F. R. I. C. The following papers were presented and discussed:

The Determination of 4-Chloro-2-methylphenoxyacetic Acid in MCPA by a Differential Refractometric Method, by *R. Hill*, B. Sc., A. R. I. C. (Imperial Chemical Industries Ltd., Research Department, Widnes.)

A differential refractometric method was described for the determination of the biologically active 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid in MCPA containing 80 to 100 per cent of the active acid. The method involves the comparison of the refractive index of a saturated solution of pure 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid with that of a solution of the sample prepared in such a way that all the impurities in the sample are dissolved and the solution is saturated with the main component. The difference in refractive index between the two solutions is an accurate measure of the impurity content of the sample, provided that the impurities are methyl- or chloro-methylphenoxyacetic acids or both. The result for synthetic samples are in good agreement with the actual values and the precision of a single determination is better than $\pm$ 1 per cent expressed as 95 per cent confidence limits.

Paper Chromatography with Continuous Change in Solvent Composition. Part I: Separation of Fatty Acids. Part II: Separation of Surface Active Agents, by *F. Franks*, B. Sc., A. R. I. C. (South-East Essex Technical College and School of Art, Dagenham.)

Part I: "Separation of Fatty Acids."

A method and apparatus were described which allow paper partition chromatography to be carried out with a solvent whose composition changes continuously in an exponential manner. The method is preferred to more conventional procedures, because very similar compounds such as members of homologous series can be separated on a short paper strip, thus avoiding diffusiveness of zones.

The method has been applied to the separation of mixtures of long-chain fatty acids obtained from acetone extracts of laundered articles.

Part II: "Separation of Surface Active Agents."

The method and apparatus described in Part I are used to separate mixtures of surface-active agents and commercial detergents. Procedures were described for the resolution of anionic and cationic compositions. It has not yet been possible to identify the resolved components of commercial detergents, since pure reference compounds are not readily available.

Buchbesprechungen

Ronald Belcher and *Cecil L. Wilson:* **New Methods in Analytical Chemistry.** XII, 287 S. London: Chapman & Hall. 1955. 30/-.

Das vorliegende Buch bringt eine Sammlung neuerer analytisch-chemischer Methoden organischer und anorganischer Richtung, die hinsichtlich ihrer Eignung für bestimmte Zwecke eingehend charakterisiert sind und deren Ausführung beschrieben wird. Eine beträchtliche Zahl der aufgenommenen Verfahren wurde von den Autoren praktisch erprobt. Soweit als möglich wurden unzureichende Angaben der Originalliteratur durch die Verfasser ergänzt, so daß sich für den Benützer des Buches zeitraubende Vorversuche erübrigen; damit werden in den beiden letzten Jahrzehnten veröffentlichte Fortschritte der analytischen Chemie der Praxis nahegebracht. Berücksichtigt wurden hierbei insbesondere solche neue Methoden, die bisher in analytische Lehr- und Handbücher noch nicht aufgenommen wurden. Es ginge jedoch über den Rahmen dieser Besprechung hinaus, wollte man auf nähere Einzelheiten des reichhaltigen Inhaltes eingehen. Als Fundgrube wertvollster Anregungen und Hinweise wird das Buch sicherlich in vielen analytischen Laboratorien dankbare Aufnahme finden. *M. K. Zachèrl*-Wien

W. Bladergroen: **Einführung in die Energetik und Kinetik biologischer Vorgänge.** Mit 66 Abb. und 34 Tab. IX, 368 S. Basel: Wepf und Co. 1955. Gln. sfr. 28,—, DM 26,90.

Das über eines der Kapitel dieses Buches gesetzte Motto von *Svante Arrhenius* "I am convinced that biological chemistry cannot develop into a real science without the aid of the exact methods offered by physical chemistry" kann ebenso auch als Begründung für die Aktualität und Wichtigkeit des ganzen Buches dienen, mit dessen Veröffentlichung der bestens bekannte Autor allen biologisch Interessierten einen überaus wertvollen Dienst erwiesen hat. Ohne auf die mathematische Formelsprache zu verzichten, werden die Prinzipien der Thermodynamik und chemischen Kinetik in oft bewundernswert einfacher, gut verständlicher Form abgeleitet, erklärt und auf die Probleme der Biologie angewendet. Dadurch gelingt es dem Autor, die physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten des Reaktionsablaufes im lebenden Substrat dem Leser nahezubringen und deren ursächliche Zusammenhänge zu durchleuchten. In eindringlicher Klarheit wird so die Bedeutung moderner Grundlagenforschung für die Kenntnis der verschiedenartigen, meist sehr komplexen Stoffwechselvorgänge unter Beweis gestellt und an treffenden Beispielen erläutert. Der Unterricht in Biologie und Medizin wird sich mit großem Nutzen dieses ausgezeichneten Buches bedienen. *M. K. Zacherl*-Wien

Handbuch für das Eisenhüttenlaboratorium. Herausgegeben vom Chemikerausschuß des Vereins Deutscher Eisenhüttenleute. Band 4: *Schiedsanalysen.* Mit 23 Abb. u. vielen Tafeln. VI, 168 S. Düsseldorf: Verlag Stahleisen m. b. H. 1955. Ganzl. DM 22.—.

In einer großen Gemeinschaftsarbeit hat der Chemikerausschuß des Vereins Deutscher Eisenhüttenleute mit dem Band „Schiedsanalysen" eine Sammlung verbindlicher Analysenvorschriften zur Untersuchung der üblicherweise im Eisenhüttenlaboratorium auftauchenden Grundstoffe herausgegeben. Soweit man Analysenverfahren überhaupt „normieren" kann und darf, ist dies hier geschehen; es wurden nicht nur alle wesentlichen und

bewährten, sondern auch moderne Analysenmethoden in gemeinsamer, vergleichender Arbeit auf ihre Brauchbarkeit als Schiedsverfahren in einer Reihe verschiedener Laboratorien der Eisenhüttenindustrie untersucht.

Das Werk ist in drei Hauptteile gegliedert: 1. Untersuchung nichtmetallischer Stoffe (Erze, feste Brennstoffe, Schlacken), 2. Roheisen und Stahl und 3. Ferrolegierungen und Desoxydationsmittel. Daß neben bewährten Analysenverfahren auch moderne Methoden, wie z. B. Extraktionsmethoden und potentio-coulometrische Bestimmungen, aufgenommen wurden, zeigen die Kapitel über Aluminium und Kohlenstoff. Für die verschiedenen Aufgaben wurde jeweils nur eine Methode als verbindlich erklärt. Eine wesentliche Neuerung ist darin zu sehen, daß neben den sehr ausführlich gehaltenen Analysenvorschriften in diesem Buch die Analysensicherheit sehr stark betont wird. Unter Heranziehung mathematisch-statistischer Grundsätze wurden aus einer Großzahl experimentell ermittelter analytischer Daten Formeln und Tabellen geschaffen, woraus sofort für jedes Element und für jede Methode bei einer bestimmten Anzahl von Einzelbestimmungen die erreichbare Genauigkeit ermittelt werden bzw. umgekehrt die Anzahl der durchzuführenden Bestimmungen errechnet werden kann, wenn eine bestimmte Abweichung vom wahren Wert nicht überschritten werden darf.

Von diesem Gesichtspunkt aus war die Auswahl der einzelnen Analysenvorschriften keineswegs nach ihrer Durchführungsgeschwindigkeit zu treffen, sondern war ihre Sicherheit (Reproduzierbarkeit) und damit ihre Genauigkeit maßgebend. Somit ist, was außerordentlich begrüßenswert erscheint, sowohl für den Chemiker als auch für den Kaufmann die Grundlage geschaffen, um einwandfreie Analysen zu erhalten bzw. durchführen zu können.

Zu wünschen wäre, daß sobald als möglich, vielleicht schon bei der ersten Neuauflage, auch Methoden zur Bestimmung von Bor, Arsen, Niob-Tantal, Zirkonium, Sauerstoff und Zinn, die gelegentlich zu Schiedsanalysen führen können und bislang noch fehlen, zur Verfügung stehen.

H. Malissa-Düsseldorf

K. Krejci-Graf: **Erdöl.** Naturgeschichte eines Rohstoffes. Zweite, umgearb. Aufl. Mit 32 Abb., IX, 165 S. (Verständliche Wissenschaft, 28. Band.) Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. 1955. Ganzl. DM 7,80.

Das Erdöl ist der unentbehrliche Rohstoff unserer flüssigen Kraftstoffe und Schmiermittel. Ähnlich wie die Kohle ist auch das Erdöl heute die Grundlage einer sich rasch ausweitenden chemischen Industrie.

Die Welterdölproduktion betrug 1955 über 700 Mio Tonnen, wovon 50% auf die USA, 15% auf Venezuela, 18% auf den mittleren Osten, 10% auf die Ostblockstaaten und der Rest auf die übrigen Länder entfiel. Die Welterdölvorräte werden auf 20 Mia Tonnen geschätzt, wobei sich Förderung und nachgewiesene Vorräte immer noch in aufsteigender Linie bewegen.

Öl- und Gasfelder kommen praktisch nur in fossilen marinen Sedimentationsbecken vor. Innerhalb der Ablagerungsgebiete trifft man das Erdöl in bestimmten geologischen Bauformen an, die entweder tektonischer Natur sind (Antiklinen, Bruchstrukturen, Salzdome) oder bei der Sedimentation der Schichten entstehen (Sandlinsen, poröse Karbonatgesteine, Riffe, Diskordanzen usw.).

Das Erdöl als flüssige Substanz ist nicht an den Ort seiner Entstehung gebunden, sondern wandert, bis ihm undurchlässige Schichten den weiteren Weg versperren. Wir müssen daher die Entstehung in den Muttergesteinen,

die Wanderung und die Anreicherung in den Speichergesteinen unterscheiden. Speicherfähig sind alle durchlässigen Gesteine, besonders aber Sande, Sandsteine, poröse Kalke und Dolomite. Während die Rolle der geologischen Bauformen und der Speichergesteine bei der Lagerstättenbildung im wesentlichen geklärt ist, sind noch viele Fragen der Erdölentstehung und Migration offen.

Der Verfasser hat sich seit vielen Jahren eingehend mit diesen Problemen befaßt und versucht, sie auf statistischem und geochemischem Wege zu klären. Über die organische Herkunft des Erdöls besteht kein Zweifel, da im Rohöl Cholesterine, Porphyrine und andere leicht zerstörbare organische Verbindungen nachgewiesen wurden, die nur von Lebewesen stammen können. Auch in den begleitenden Lagerstättenwässern sind neben reichlich NaCl biophile Elemente, wie J, Br, N, K, angereichert. Als Ausgangsmaterial des Öles betrachtet der Verfasser Kohlenhydrate, Eiweiß und Fette, die aber nur dann erhalten bleiben, wenn am Meeresboden anaerobe Bedingungen herrschen, das heißt, er erblickt in den fossilen Faulschlammbildungen die Erdölmuttergesteine. Es ist in diesem Zusammenhang bemerkenswert, daß eine Anreicherung der Spurenelemente V, Mo und Ni sowohl im Rohöl als auch in den Sapropelgesteinen nachzuweisen ist. Nach der Ablagerung der organischen Substanz entsteht durch bakterielle Zersetzung das „Urbitumen". Den weiteren Vorgang stellt sich der Verfasser ähnlich dem Krackverfahren der Erdölverarbeitung vor, wobei ein Teil des Ausgangsmaterials zu Gas und flüssigen Produkten, der andere aber zu festem Bitumen wird. Er nimmt daher an, daß das ursprünglich gebildete Erdöl hauptsächlich aus Alkanen besteht. Die Naphthenbildung tritt nach *Krejci-Graf* dort ein, wo das Rohöl längere Zeit mit Oberflächenwässern oder mit Kalk in Verbindung stand, so daß das häufige Auftreten von naphthenbasischen Ölen über paraffinbasischen als „Hutbildung" gedeutet wird. Die Aromatisierung wird auf thermische Einflüsse zurückgeführt.

Die Migration findet nach dem Verfasser vor allem durch Spalten statt. Beim Austreiben des Öles aus den Muttergesteinen wird dem Gebirgsdruck eine wesentliche Rolle zugeschrieben.

Wenn sich auch der Autor in dem vorliegenden Bändchen hauptsächlich den Fragen der Erdölentstehung und Lagerstättenbildung widmet, so werden doch auch alle anderen Gebiete, von der Erdölsuche bis zur Verarbeitung, berührt. Das Buch kann daher jedem wärmstens empfohlen werden, der sich über die Grundfragen der Erdölwissenschaft orientieren will.

H. Wieseneder-Wien

R. F. Milton und *W. A. Waters:* **Methods of Quantitative Micro-Analysis.** 2. Aufl. Mit 201 Textabb., XI, 742 S. London: Edward Arnold. 1955. Geb. 70/-.

Gegenüber der 1. Auflage [s. Mikrochem. **35**, 107 (1950)], die nur 6 Jahre zurückliegt, hat der Umfang erheblich zugenommen, zumal nicht nur eine Erweiterung ursprünglicher Abschnitte, sondern auch die Neuaufnahme eines Kapitels über Chromatographie (*S. M. Partridge* und *T. Swain*) und eines Kapitels über mikrobiologische Verfahren *(A. J. Amos)* nötig war. Die schon seinerzeit hervorgehobenen Mängel vor allem hinsichtlich gewisser Methoden der organischen Mikroanalyse blieben leider auch diesmal unberücksichtigt. Bedauerlicherweise wurde auch wenig Sorgfalt bei der Anführung von Eigennamen aufgewendet, die zum Teil immer wieder falsch geschrieben sind. Die Hervorhebung dieser Schönheitsfehler soll und kann aber nichts daran ändern, daß hier ein Standardwerk der Mikroanalyse von

hoher Qualität vorliegt, das sich bereits bedeutende Anerkennung erworben hat und dessen Neuauflage sicherlich lebhaft zu begrüßen ist.

M. K. Zacherl-Wien

A. Schleicher: **Qualitative Schnellanalyse.** 2., verbesserte und erweiterte Aufl. 90 S. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1956. DM 7,80.

Auf der Grundlage von Arbeiten von *G. Charlot, D. Bézier* und *R. Gauguin* einerseits, von *I. M. Odekerken* anderseits werden für anorganische Kationen und Anionen Reaktionen angegeben, die unter Verwendung geringer Lösungsmengen, bei geringem Reagenzienverbrauch, tunlichst unter Vermeidung von Fällungen, unter Ausschaltung von Schwefelwasserstoff bzw. eines systematischen Analysenganges rasch zur Kenntnis der ungefähren qualitativen Zusammensetzung einer Probe führen. Vorzugsweise werden spezifische Reaktionen verwendet, deren Anwendung voneinander unabhängig ist.

Gegenüber der 1. Auflage wurden einige Verbesserungen aufgenommen, so z. B. die Verwendung des Komplexons beim Nachweis der Erdalkalien und des Kaliums ohne vorherige Abtrennung und zur Charakterisierung des Quecksilbers.

Wie ausdrücklich hervorgehoben wird, sind für die Anwendung dieses Verfahrens allgemein-analytische Kenntnisse vorausgesetzt. Es bietet unter anderem den Vorteil, durch Einfügung neuer Reaktionen entwicklungsfähig zu sein.

M. K. Zacherl-Wien

C. R. N. Strouts, J. H. Gilfillan und *H. N. Wilson:* **Analytical Chemistry.** The Working Tools. 2 Bände. Mit 20 Tafeln und zahlreichen Abb., XXIV bzw. XII, 1067 S. London: Oxford University Press. 1955. £ 5/5/0.

Die beiden umfangreichen Bände sind das Ergebnis der Zusammenarbeit einer größeren Gruppe von Autoren, die sich als Mitglieder des Komitees der Analytischen Chemiker der Imperial Chemical Industries Ltd. die Aufgabe stellten, die in den Laboratorien dieses Konzerns verwendeten analytischen Verfahren zu vereinheitlichen. Man wird also nicht erwarten dürfen, daß dieses Werk alle bewährten und seit langem in Forschung und Praxis üblichen analytischen Methoden berücksichtigt. Sondern es sind nur jene Verfahren aufgenommen, deren Arbeitsvorschriften im Rahmen der I. C. I. standardisiert und somit für diese Laboratorien verbindlich erklärt wurden. Damit ist selbstverständlich nicht nur eine Fülle wertvoller Erfahrungen allgemein zugänglich geworden, sondern man darf erwarten, daß hierdurch auch die manchenorts regional bzw. international angestrebte Standardisierung analytischer Methoden eine wesentliche Förderung erfahren wird. Man wird sich aber auch darüber klar sein müssen, daß manche entscheidende Verbesserung oder Vereinfachung analytischer Methoden, die inzwischen längst allgemein üblich wurde, in dieser Sammlung unberücksichtigt geblieben ist. So dürfte nach Ansicht des Referenten z. B. die allgemeine und wohl auch verbindliche Anwendung der Schmelzpunktsbestimmung nach *Kofler* kaum durch die Beschreibung und Standardisierung eines älteren Verfahrens aufzuhalten sein. Ähnliches mag unter anderem auch für die Methoden zur Bestimmung der Dichte gelten.

Es wäre durchaus zu begrüßen, wenn sich auch andere Unternehmungen der chemischen Großindustrie zu ähnlichen Publikationen ihrer einvernehmlich geregelten Prüfungsmethoden entschließen könnten. Der damit verbundene Aufwand an Mühe und Kosten würde sich ohne Zweifel lohnen.

M. K. Zacherl-Wien

Abkürzungen	Abbreviations	Abréviations
Acta Chem. Scand.	Acta Chemica Scandinavica	
Amer. J. Physiol.	American Journal of Physiology	
Analyst	The Analyst	
Analyt. Chemistry	Analytical Chemistry	
Analyt. Chim. Acta	Analytica Chimica Acta	
Angew. Chem.	Angewandte Chemie (bis 1932 Zeitschrift für angewandte Chemie)	
Ann. Chem.	Liebigs Annalen der Chemie	
Ann. chim.	Annales de chimie	
Ann. Physik	Annalen der Physik	
Ann. physique	Annales de physique	
Arch. Biochemistry	Archives of Biochemistry	
Arch. Pharmaz.	Archiv der Pharmazie und Berichte der deutschen pharmazeutischen Gesellschaft	
Arch. sci. phys. nat.	Archives des sciences physiques et naturelles	
Ark. Kemi (Mineral. Geol.)	Arkiv för Kemi (Mineralogi och Geologi)	
Atti accad. Lincei (Rend.)	Atti della accademia nazionale dei Lincei (Rendiconti)	
Ber. dtsch. chem. Ges.	Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (bis 1944)	
Biochemic. J.	Biochemical Journal	
Biochem. Z.	Biochemische Zeitschrift	
Biochim. Biophys. Acta	Biochimica et Biophysica Acta	
Bull. soc. chim. Belgique	Bulletin de la société chimique de Belgique	
Bull. soc. chim. biol.	Bulletin de la société de chimie biologique	
Bull. soc. chim. France	Bulletin de la société chimique de France	
Canad. J. Chem.	Canadian Journal of Chemistry	
Chem. Abstr.	Chemical Abstracts	
Chem. and Ind.	Chemistry and Industry	
Chem. Ber.	Chemische Berichte	
Chem. Eng. News	Chemical and Engineering News	
Chemie	Die Chemie (1942—1945)	
Chem. Fabrik	Die chemische Fabrik (bis 1941)	
Chem. Industrie	Die chemische Industrie	
Chem. Ing. Techn.	Chemie-Ingenieur-Technik	
Chem. Weekbl.	Chemisch Weekblad	
Chem. Zbl.	Chemisches Zentralblatt	
Chem.-Ztg.	Chemiker-Zeitung	
C. r. acad. sci., Paris	Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences, Paris	
Exper.	Experientia	
Gazz. chim. ital.	Gazzetta chimica italiana	
Helv. Chim. Acta	Helvetica Chimica Acta	
Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.	Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition (bis 1947)	
J. Amer. Chem. Soc.	Journal of the American Chemical Society	
J. Biol. Chem.	Journal of Biological Chemistry	
J. Chem. Education	Journal of Chemical Education	
J. Chem. Physics	Journal of Chemical Physics	
J. Chem. Soc. London	Journal of the Chemical Society London	
J. Chem. Soc. Japan	Journal of the Chemical Society of Japan	
J. Gen. Chem. USSR	Journal of General Chemistry USSR	
J. Org. Chem.	Journal of Organic Chemistry	

J. Physic. Chem.	Journal of Physical Chemistry
J. Physic. Coll. Chem.	Journal of Physical and Colloid Chemistry
J. Physiol.	Journal of Physiology
J. Polymer Sci.	Journal of Polymer Science
J. prakt. Chem.	Journal für praktische Chemie (bis 1943)
J. Soc. Chem. Ind.	Journal of the Society of Chemical Industry
Klin. Wschr.	Klinische Wochenschrift
Kolloid-Beih.	Kolloid-Beihefte
Kolloid-Z.	Kolloid-Zeitschrift
Mikrochem.	Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta (bis 1953)
Mikrochim. Acta [Wien]	Mikrochimica Acta
Mh. Chem.	Monatshefte für Chemie
Nature	Nature (London)
Naturwiss.	Die Naturwissenschaften
Österr. Chem.-Ztg.	Österreichische Chemiker-Zeitung
Physik. Z.	Physikalische Zeitschrift
Proc. Roy. Soc. London	Proceedings of the Royal Society of London
Rec. trav. chim. Pays-Bas	Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas
Science	Science
Svensk Kem. Tidskr.	Svensk Kemisk Tidskrift
Trans. Faraday Soc.	Transactions of the Faraday Society
Z. analyt. Chem.	Zeitschrift für analytische Chemie
Z. anorg. Chem.	Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie
Z. Elektrochem.	Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie
Z. Naturforsch.	Zeitschrift für Naturforschung
Z. Kristallogr.	Zeitschrift für Kristallographie, Kristallgeometrie, Kristallphysik, Kristallchemie
Z. Physik	Zeitschrift für Physik
Z. physik. Chem.	Zeitschrift für physikalische Chemie
Z. physiol. Chem.	Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie

Die Autoren werden dringend gebeten, bei allen Literaturzitaten anzugeben:

1. Titel der Zeitschrift in obenstehender Abkürzung,
2. Eventuelle Serienzahl in eckiger Klammer,
3. Bandzahl unterstrichen,
4. Seitenzahl,
5. Jahreszahl in runder Klammer.

The authors are urged to cite all the references as follows:

1. Abbreviated title of the periodical according to the above list,
2. eventual number of series, enclosed in crotchets (square brackets),
3. number of volume, underlined,
4. page-number,
5. year, enclosed in parentheses (round brackets).

Les auteurs sont instamment priés d'indiquer leurs sources comme suit:

1. titre abrégé du périodique selon liste ci-dessus,
2. numéro éventuel de la série, entre crochets,
3. numéro du volume, souligné,
4. page,
5. année, entre parenthèses ordinaires.

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52